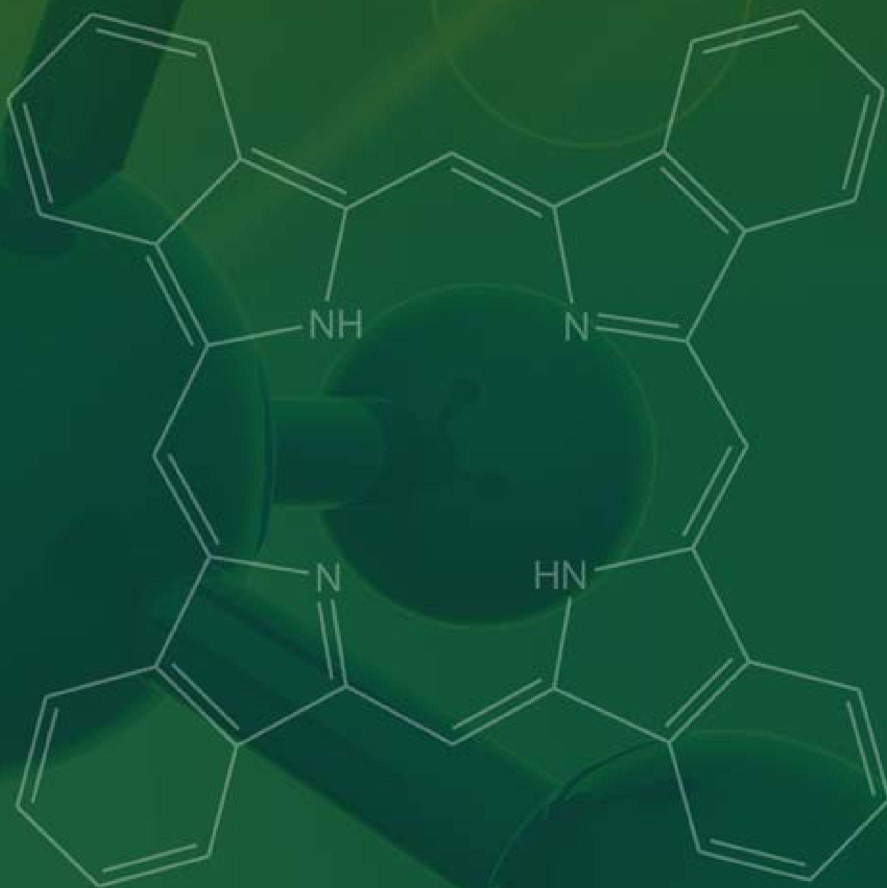


UNIVERSIDAD DE SAN BUENAVENTURA CALI

MANUAL DE PRÁCTICAS DE QUÍMICA ORGÁNICA APLICADA



Carlos David Grande Tovar



UNIVERSIDAD DE
SAN BUENAVENTURA
CALI

Manual de prácticas de Química Orgánica Aplicada

Carlos David Grande Tovar

2013

Grande Tovar, Carlos David

Manual de prácticas de Química Orgánica Aplicada / Carlos David Grande Tovar. - Cali : Editorial Bonaventuriana, 2013

104 p.

ISBN: 978-958-8785-12-7

1. Química orgánica 2. Compuestos orgánicos 3. Fisicoquímica orgánica 4. Análisis químico 5. Química orgánica - Manuales de laboratorio 6. Química orgánica - Experimentos 7. Química orgánica - Problemas, ejercicios, etc.

547 (D 23)

G751m



Manual de prácticas de Química Orgánica Aplicada

© Autor: Carlos David Grande Tovar
Grupo de investigación: Biotecnología
Facultad de Ingeniería, Universidad de San Buenaventura Cali
Colombia

© Editorial Bonaventuriana, 2013
Universidad de San Buenaventura
Coordinación Editorial Cali
Calle 117 No. 11A-62
PBX: 57 (1) 520 02 99 - 57 (2) 318 22 00 - 488 22 22
e-mail: editorial.bonaventuriana@usbrecgen.edu.co
http://www.editorialbonaventuriana.edu.co
Colombia, Sur América

ISBN: 978-958-8785-12-7
Libro digital
Cumplido el depósito legal (Ley 44 de 1993, Decreto 460 de 1995 y Decreto 358 de 2000).
2013

Tabla de contenido

Introducción

El estudio de la química orgánica (la química del carbono) es una actividad de gran importancia para los estudiantes de carreras de ciencias básicas, ingenierías y muchas otras, debido a que más del 95 % de las sustancias conocidas son compuestos del carbono, entre las que se incluyen sustancias naturales y sintéticas. Entre las primeras se encuentran las sustancias responsables de la vida, como los carbohidratos, los lípidos, los ácidos nucleicos y las proteínas; y entre las segundas están los fármacos, polímeros, pesticidas, pinturas, jabones, detergentes, perfumes, cosméticos, insecticidas, entre otras. Todo esto demuestra la gran importancia y aplicación que tiene el estudio de la química del carbono, para lo cual se requiere estructurar el pensamiento del estudiante, mediante el seguimiento y aplicación de protocolos establecidos, basados en el método científico.

Este manual contiene una serie de prácticas de laboratorio en química orgánica diseñadas cuidadosamente para que el estudiante afiance los conocimientos sobre las técnicas de purificación de sólidos y líquidos y perfeccione el análisis de algunos grupos funcionales. Además se plantean prácticas relacionadas con la síntesis de algunos compuestos orgánicos sencillos y el aislamiento a partir de sustratos naturales, principios activos de interés y verificación de su pureza.

Se pretende que el estudiante adquiera la habilidad para diseñar experimentos, analizar sus resultados y elaborar informes de experimentación tipo artículo. Asimismo, es importante que realice una preparación previa del material y profundice en los marcos teóricos y en el procedimiento, de manera que pueda aplicar el conocimiento adquirido en la teoría y observar dicha aplicación.

Práctica 1
Destilación de un aceite esencial a partir de eucalipto (*Eucalyptus globulus l.*)

Objetivos

- Analizar los principios que rigen la destilación por arrastre de vapor.
- Aplicar la técnica de destilación por arrastre de vapor para la separación de un aceite esencial a partir de las hojas de eucalipto, siguiendo el procedimiento planteado.
- Determinar el índice de refracción de la sustancia obtenida.

Introducción

La destilación por arrastre de vapor es útil para llevar a cabo la separación y purificación de compuestos orgánicos ligeramente volátiles insolubles en agua y de otras sustancias no volátiles presentes en matrices, tales como resinas, ceras, complejos proteicos y otros compuestos que no se pueden volatilizar. Esta técnica involucra la codestilación de agua y sustancias con punto de ebullición alto, a presión atmosférica y a temperaturas menores de 100 °C (Verlag Stuttgart, 1987).

Su ventaja es que sirve para la separación de sustancias inestables con un alto punto de ebullición, evitando así su posible descomposición. Al finalizar, el componente deseado se separa del agua y se extrae con algún solvente orgánico, si es necesario (volumen relativamente bajo).

Los vapores saturados de una mezcla heterogénea de dos líquidos inmiscibles entre sí, según la ley de Dalton, ejercen una presión de vapor independiente del

otro, es decir, cada componente de la mezcla se evapora independientemente de los otros. Al destilar una mezcla de dos líquidos inmiscibles, su punto de ebullición será la temperatura a la cual la suma de las presiones de vapor es igual a la presión atmosférica. Esta temperatura será inferior al punto de ebullición del componente más volátil. Cuando uno de los líquidos es agua y se trabaja a presión atmosférica, se podrá separar un componente de mayor punto de ebullición que el agua, a una temperatura inferior a 100 °C (Durst & Gokel, 1985); (Valderruten & Usher, 2009a).

Los aceites esenciales son mezclas complejas de terpenos, hidrocarburos, alcoholes, compuestos carbonílicos, compuestos aromáticos y fenoles, entre otros, que se encuentran en las cáscaras, semillas y hojas de algunas plantas. Son inflamables, no son tóxicos, aunque pueden provocar alergias en personas sensibles a determinados componentes terpenoides. Sufren degradación química en presencia de la luz solar, del aire, del calor, de ácidos y álcalis fuertes, y generan oligómeros de naturaleza indeterminada. Son solubles en disolventes orgánicos comunes e inmiscibles en disolventes polares (agua, amoníaco) (Sellar, 1992); (Primo, 1995).

En el vegetal, los aceites esenciales están almacenados en glándulas, conductos, sacos, o simplemente reservorios dentro del vegetal, por lo que es conveniente triturar o trocear el material para exponer esos reservorios a la acción del vapor de agua. Los aceites esenciales son productos naturales aplicados en diferentes campos como la cosmética, la farmacéutica, los alimentos, el aseo, los plaguicidas, los biocidas y la aromaterapia.

El eucalipto (*Eucalyptus globulus*) es una especie australiana que alcanza hasta dieciséis metros de altura. Muy apreciado en fitoterapia porque ayuda a descongestionar las vías respiratorias. Es un árbol perenne de la familia de las mirtáceas. Su aceite esencial es rico en terpenoides, ácidos orgánicos y flavonoides. En esta práctica se obtendrá el aceite esencial de las hojas secas del eucalipto.

Figura 1
Hojas del árbol de eucalipto (*Eucaliptus globulus l.*)



Fuente: www.fytosan.com

Materiales

- Balón de 250 ml, boca 24/40, con desprendimiento para condensador.
- Tubo condensador, con bocas 24/40.
- Refrigerante para agua 24/40 con mangueras.
- Vaso de precipitados de 250 ml.
- Vaso de precipitados de 100 ml.
- Erlenmeyer de 50 ml.
- 3 pinzas de tres dedos con nuez.
- 2 soportes universales.
- 2 mangueras.
- Termómetro.

Equipos

- Balanza.
- Planchas agitadoras y calentadoras.
- Refractómetro.

Reactivos

- Agua destilada.
- Éter o hexano.
- Sulfato de sodio anhidro.

Protocolo

- Montar el equipo que se muestra en la Figura 2.
- Pesar el balón vacío.
- Colocar en el balón, hasta aproximadamente tres cuartos de su volumen, el material que va a extraer, cortado en trozos pequeños (molido o triturado si se trata de semillas).
- Pesar el balón con la muestra.
- Agregar agua destilada hasta la mitad del balón y colocar perlas de ebullición.
- Montar el balón en la plancha de calentamiento o manta y sostenerlo con unas pinzas.

- Conectar la plancha de calentamiento y comenzar a calentar cuidadosamente hasta ebullición. Asegúrese de que el reflujo sea el adecuado (no muy brusco).
- El aceite empieza a caer en el recipiente colector. Suspender el reflujo cuando ya no caiga más aceite esencial. Dejar enfriar un poco el aparato y recoger el aceite en un Erlenmeyer de 50 ml. Adicione sulfato de sodio anhidro, déjelo actuar durante 10 minutos y a continuación filtre a gravedad. Mida el volumen del filtrado y viértalo a un vial, protegiéndolo de la luz.
- Finalmente, con el aceite obtenido, determine el índice de refracción y el rendimiento de la extracción.

Figura 2

Montaje para la destilación por arrastre de vapor



Fuente: 4.bp.blogspot.com/

Recomendaciones

- La temperatura de destilación debe ajustarse de manera que caiga una gota por segundo.
- Para efectuar el calentamiento, puede usarse, indistintamente, una parrilla con agitación o una canastilla eléctrica.
- La condensación del disolvente debe producirse en la parte baja del refrigerante. El tiempo de reflujo empieza a partir del momento en que cae la primera gota de disolvente condensado.

– Se deben descartar las primeras gotas de aceite que generalmente vienen contaminadas de otros componentes.

Cuestionario

1. Investigue al menos diez aceites esenciales aplicados en las industrias farmacéutica y cosmética.
2. ¿Qué es la aromaterapia? ¿Para qué se aplica?
3. ¿Para qué se recomienda el uso del sulfato de sodio anhidro?
4. ¿Qué son los terpenos y en qué consiste la regla isoprénica?
5. ¿Qué es la lixivación y en qué consiste?

Práctica 2
Reconocimiento de la presencia de grupos funcionales en compuestos orgánicos

Objetivos

- Reconocer mediante pruebas cualitativas la presencia de ciertos grupos funcionales en compuestos orgánicos.
- Aplicar el análisis sistemático para el reconocimiento de los grupos funcionales en las muestras.

Introducción

Esta práctica es una adaptación del libro *Manual de prácticas de química orgánica* (García Sánchez, 2002) que resulta muy eficaz y sencilla para identificar grupos funcionales característicos en una muestra problema.

Un grupo funcional es un grupo de átomos de un compuesto que determinan sus propiedades químicas y físicas, y dirigen sus centros reactivos. En una molécula pueden estar presentes uno o varios de estos grupos funcionales determinando, en conjunto, las características físicas y químicas fundamentales del compuesto, según sea su conectividad. Muchos están presentes en la naturaleza, pero otros son escasos, como los halogenuros de ácido, los cuales se preparan sintéticamente para facilitar su conversión a otros derivados (McMurry, 2008).

Los grupos funcionales más importantes se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1
Principales grupos funcionales orgánicos presentes en las moléculas

Grupo funcional	Representación característica
Alcano	C-C
Alqueno	C=C
Alquino	C≡C
Éter	R-O-R
Alcohol	R-OH
Nitro	$R-NO_2$
Sulfuro	R-S-R'
Amina	$R-NH_2$
Cetona	R-CO-R'
Aldehído	R-CO-H
Nitrilo	R–CN
Halogenuro de acilo	R-CO-X
Halogenuro de alquilo	R-X
Amida	$R-CO-NH_2$
Éster	R-CO-O-R'
Anhídrido de ácido	R-CO-O-COR'
Ácido carboxílico	R-COOH
Mercaptano	R_3C-SH
Sales de amonio, fosfonio y sulfonio	R_4N^+ R_4P^+ R_3S^+
R, R', R" = grupos alquilo o arilo; X= halógenos (Cl, Br, I o F).	

Fuente: García Sánchez *Manual de prácticas de química orgánica* I. Universidad autónoma metropolitana Unidad Iztapalapa, México, D.F. 2002.

Método sistemático para la clasificación de un compuesto por análisis de reactividad de los grupos funcionales

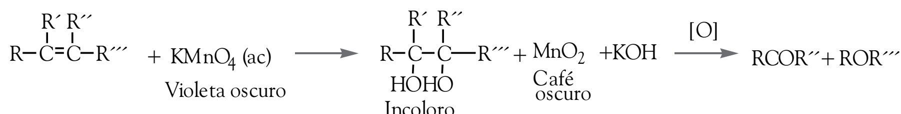
Al utilizar compuestos colorimétricos se pueden clasificar grupos funcionales. Los ácidos carboxílicos en solución acuosa disminuyen el pH de la solución y dan un color rojo por viraje del indicador universal hacia ese color. Las aminas, de carácter básico, en solución aumentan el pH y en presencia del indicador universal viran a verde-azulado; sin embargo, si no hay viraje del color amarillo, no es ni un ácido ni una base y se procede al siguiente paso (García Sánchez, 2002).

La siguiente posibilidad es analizar si se trata de grupos susceptibles a la oxidación, para lo cual se emplean agentes oxidantes como el $KMnO_4$ neutro. Los aldehídos, al oxidarse, generan ácidos carboxílicos y los alquenos, que inicialmente generan dioles, se oxidan a dos moléculas de ácido carboxílico, lo que se evidencia con el cambio de color violeta a incoloro y genera además la aparición de un sólido café, dióxido de manganeso, MnO_2 (Shriner, Hermann, Morrill, Curtin, & Fuson, 2004); (García Sánchez, 2002).

a. Al reaccionar un aldehído con el permanganato de potasio, se genera un precipitado de color café correspondiente al dióxido de manganeso:



b. Al reaccionar un alqueno con permanganato de potasio diluido, también se forma el dióxido de manganeso café:

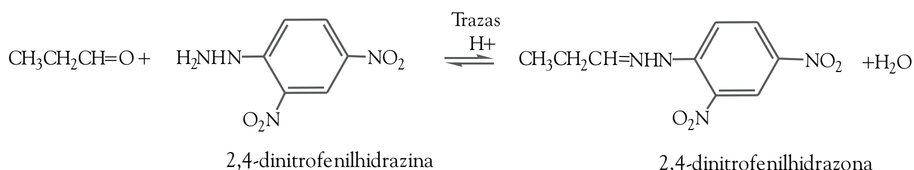


En este punto, si la prueba resulta negativa podría tratarse de un alcano, un alcohol o una cetona, los cuales deben, entonces, ser tratados con otros reactivos (García Sánchez, 2002).

c. Reacción con el reactivo de Tollens: esta prueba permite distinguir un aldehído de otros compuestos como alquenos y cetonas, ya que la plata adicionada en forma de cloruro de plata, AgCl, se reduce a plata elemental y forma el espejo de plata en el recipiente que contiene la solución.



d. Reacción con la 2,4-dinitrofenilhidracina: los aldehídos y las cetonas reaccionan con nucleófilos de nitrógeno mediante reacciones de adición-eliminación; como por ejemplo, la 2,4-DNF, una prueba de reconocimiento por la coloración de los productos que se genera gracias al grupo-C=NH.



Fuente: Adaptado de T. Brown, H. LeMay, B. Bursten, C. Murphy.

e. Reacción de alcoholes con sodio metálico: para poder distinguir entre alcoholes y alcanos, se debe realizar la prueba con sodio metálico, ya que los alcoholes (y el agua) reaccionan con el sodio (o litio) metálico para formar alcóxidos, lo cual se puede evidenciar por el burbujeo que se da en la reacción debido a la formación de hidrógeno gaseoso.



$$2ROH + 2Na(s) \longrightarrow 2RO^{-}Na^{+} + H_2\ (g)$$

Los alcanos tienen un resultado negativo en esta prueba.

Materiales

- 1 baño María.
- 12 tubos de ensayo.
- 2 vasos de 50 ml.
- 2 goteros.
- 1 pipeta graduada de 5 ml.
- 1 propipeta.
- 2 matraces aforados de 100 ml.
- 2 matraces aforados de 50 ml.
- 1 Erlenmeyer de 50 ml.
- 1 varilla de vidrio.
- 1 frasco lavador.
- 1 gradilla.
- 1 espátula.

Tabla 2

Sustancias y tubos en las cantidades requeridas para las pruebas de solubilidad

Sustancia	Tubo	Cantidad (gotas)
Ácido acético	1	10
Agua destilada	2	10
Dietilamina	3	10
Propionaldehído	4	10
Ciclohexeno	5	10
Propionaldehído	6	2
Ciclohexeno	7	2
Acetona	8	10
Etanol	9	20
n-hexano	10	20

Fuente: García Sanchez, 2002.

Reactivos

- Permanganato de potasio ($KMnO_4$), 0,02 M.
- Nitrato de plata ($AgNO_3$) al 10 %.
- Hidróxido de sodio, (NaOH) 1 M.
- Hidróxido de amonio (NH_4OH) al 10 %.
- Ácido sulfúrico, (H_2SO_4).
- Ácido nítrico, (HNO_3).
- 2,4-dinitrofenilhidracina (2,4-DNF).
- Sodio metálico, (Na).
- Fenolftaleína.
- Rojo de metilo.
- Azul de bromotimol.
- Amarillo de metilo.
- Azul de timol.
- Ácido acético.
- Acetona.
- Dietilamina.
- Propionaldehído.
- Ciclohexeno.
- Etanol.
- Hexano.

Procedimiento

- Adicionar las sustancias propuestas en sus respectivas cantidades a los 10 tubos de ensayo según la Tabla 2. Rotular los tubos de ensayo.
- Adicionar 10 gotas de agua destilada a los tubos 1-3, mezclar muy bien y proceder a adicionar una gota del indicador universal. La prueba es positiva para presencia de ácido carboxílico si se genera una coloración roja. Si la coloración es verde-azulada, es básica y por tanto lo que puede haber es una amina. Si la coloración es amarillo-verdosa, significa que está neutra y se podría tratar de un hidrocarburo alifático, un alcohol, un aldehído o una cetona. Proceder al siguiente paso.
- Agregar 10 gotas de agua destilada y 5 gotas de solución de 0.02 M de $KMnO_4$ a los tubos 4 y 5. Agitarlos y observar si hay o no formación de

precipitado de color café, el cual indicaría la presencia de un aldehído o cetona por la formación de MnO_2. Si por el contrario no hay cambio en la coloración violeta de la solución, se trataría de un alcano, un alcohol o una cetona.

– Adicionar, entonces, 2 ml del reactivo de Tollens preparado previamente (debe ser fresco) a los tubos 6 y 7, agitar y observar si hay o no formación de una película plateada. Si hay formación de espejo de plata entonces es un aldehído; de lo contrario, se trata de un alqueno.

– Adicionar 2 ml de solución de 2,4-DNF al tubo 8 y agitar fuertemente. Si se forma un precipitado de color amarillo o naranja, entonces la prueba es positiva para cetona. Si no se forma, caliente un poco en baño María y observe cuidadosamente si la prueba es o no positiva. Si definitivamente no hay un resultado positivo, se trata de un alcano o un alcohol.

  Nota: en este punto existe la posibilidad de confundir un aldehído con una cetona. En caso de duda, se debe usar la prueba con el $KMnO_4$ para distinguirlos.

– Adicionar a los tubos 9 y 10 con mucha precaución, un pequeño trozo de sodio metálico (debe manejarse con cuidado y debe alejarse del agua), agitándolo suavemente por unos 10 segundos y observar si hay o no formación de gas; si hay formación de gas y el sodio se deshace se trata de un alcohol; si no, se trata de un alcano.

– Adicionalmente, se tienen dos tubos de ensayo, el 11 y el 12, con muestras problema diferentes en cada tubo, para lo que se debe aplicar todo el protocolo anterior hasta el paso 6. En esta última parte se debe tener cuidado por el peligro que representa. Se recomienda usar los resultados de los tubos 1-10 como control de los resultados 11 y 12.

Preparación de soluciones

Indicador universal

Disolver en 200 ml de etanol, 50 mg de fenolftaleína, 100 mg de rojo de metilo, 150 mg de amarillo de metilo, 200 mg de azul de bromotimol y 250 mg de azul de timol. La solución resultante es de color rojo oscuro; luego se debe adicionar gota a gota una disolución de NaOH 1 M hasta el viraje de la coloración a amarillo oscuro. En este momento, se debe enrazar la solución a 250 ml con etanol y asegurar completa disolución. Este indicador dará una coloración de acuerdo con el pH de la solución (ver Tabla 3):

Tabla 3
Coloración de la solución según el pH usando el indicador universal

pH	Color de la solución
2-4	Rojo
4-6	Anaranjado
6-8	Amarillo
8-10	Verde
10-12	Azul
12-14	Violeta

Fuente: García Sánchez, 2002.

Reactivo de Tollens

El reactivo de Tollens debe ser preparado al momento en que se va a utilizar. No se debe almacenar por la posibilidad de explosión causada por su descomposición. Para preparar este reactivo, adicionar 1 ml de la disolución de Tollens $AgNO_3$ al 10 % y 1 ml de la disolución de NaOH 1 M a un tubo de ensayo pequeño. Observará un precipitado de óxido de plata. Adicionar un volumen mínimo gota por gota de una disolución de hidróxido de amonio al 10 % hasta disolver el precipitado de óxido de plata. Adicionar dos gotas del aldehído o cetona y agitar el tubo. Si no hay reacción, calentar suavemente el tubo en un baño María.

Nota: el reactivo de Tollens se desactiva neutralizándolo con HNO_3 diluido.

Solución de 2,4-DNF

Disolver 1.5 g de 2,4-DNF en 7.5 ml de ácido sulfúrico concentrado (¡precaución!: tóxico y altamente corrosivo; trabajar en campana) y añadir, agitando constantemente, 10 ml de agua y 35 ml de etanol al 95 %. Filtrar para eliminar el exceso de sólido. La coloración del precipitado de amarillo a anaranjado depende fuertemente de la conjugación del grupo carbonilo. Si este se encuentra conjugado con otro grupo funcional (un doble enlace alternado o un anillo bencénico) la conjugación se desplaza al máximo de absorción y se obtiene el color naranja; pero si no está conjugado, se obtendrá el color amarillo.

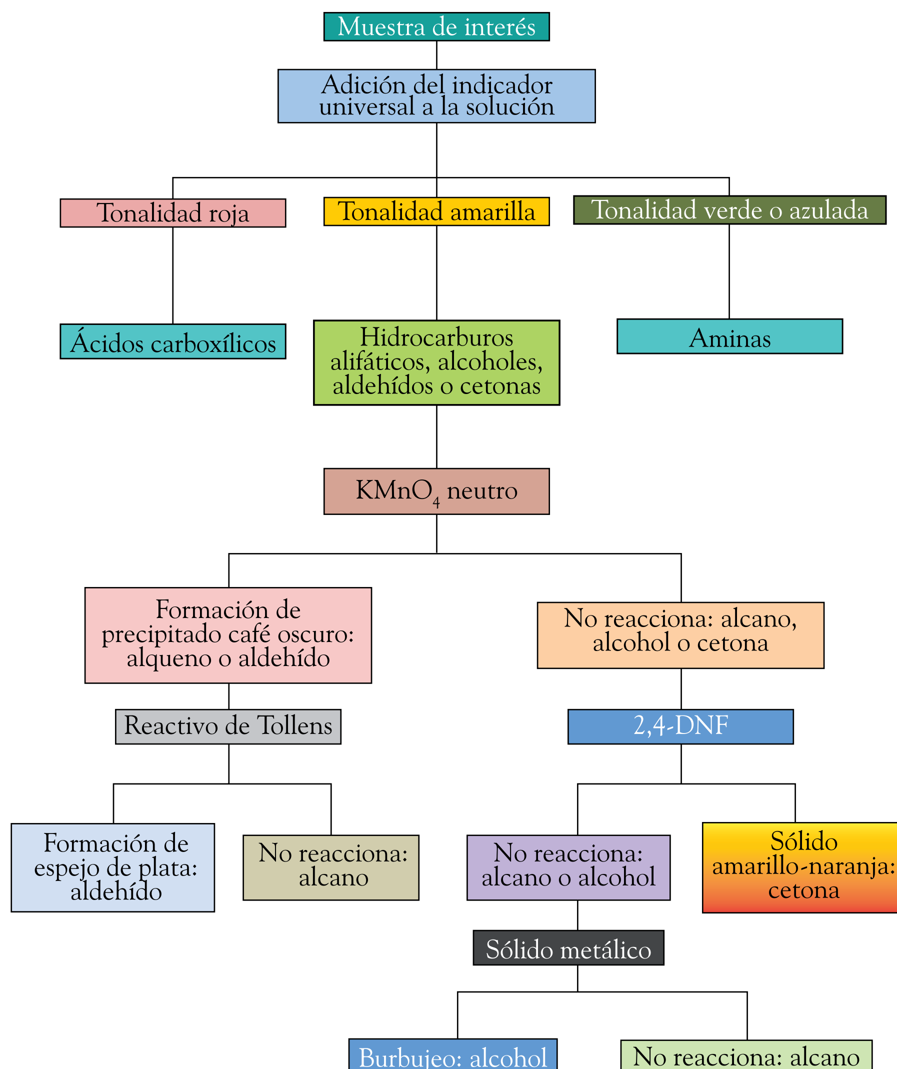
Cuestionario

1. Escribir las ecuaciones balanceadas de todas las reacciones realizadas.
2. ¿Qué se obtiene si se hace reaccionar un éster o un ácido carboxílico con la 2,4-DNF?
3. ¿Cuáles son las precauciones que se deben tener con el sodio metálico y por qué?

4. Si se tiene la posibilidad de derivatizar un aldehído o cetona con una hidracina, ¿qué reactivo usaría entre la fenilhidracina y 2,4-dinitrofenilhidracina?
5. Dibuje las estructuras y nombre, mediante nomenclatura Iupac, compuestos que ejemplifiquen los grupos funcionales de la Tabla 1.
6. Escribir los mecanismos de la reacción con $KMnO_4$ de alquenos y aldehídos.
7. ¿Por qué no se oxidan las cetonas con $KMnO_4$?

Figura 3

Esquema del procedimiento para la clasificación del grupo funcional de una molécula



Fuente: Adaptado de García Sanchez, 2002.

Práctica 3
Prueba de reconocimiento de algunos elementos en un compuesto. Fusión con sodio

Objetivos

- Utilizar la prueba de fusión con sodio para determinar la presencia de algunos elementos en un compuesto.
- Identificar por medio de los resultados de pruebas cualitativas la presencia de elementos de amplia distribución en compuestos orgánicos (N, C, S y halógenos, X).

Introducción

Esta práctica es una adaptación del libro *Manual de laboratorio de biorgánica* (Hormaza, 2004) y del libro *Análisis orgánico y espectral* (Zuluaga, Insuasty, & Yates, 1999) y resulta eficaz y sencilla para identificar elementos de amplia difusión en los compuestos orgánicos, como el C, N, S y los halógenos.

El reconocimiento y la completa caracterización de los compuestos orgánicos se pueden llevar a cabo mediante el empleo de algunos métodos físicos y químicos sencillos. Su completa caracterización puede ser una pieza clave para la investigación y comprensión de mecanismos bioquímicos en los organismos o en compuestos sintéticos. Esta caracterización inicia con el aislamiento y la purificación de la sustancia y el posterior reconocimiento de la presencia de algunos elementos como nitrógeno, azufre y halógenos. Un análisis cuantitativo posterior permite la estimación del peso molecular, lo cual ayuda a determinar la

distribución de átomos presentes en el compuesto a través de la fórmula molecular. Seguido, se debe determinar la presencia de ciertos grupos funcionales para lo cual se efectúan pruebas químicas y físicas sencillas que permiten distinguir estos grupos. Finalmente, los métodos físicos comprenden espectroscopías como la infrarroja, la resonancia magnética nuclear y el ultravioleta-visible, que permiten asignar ciertas vibraciones a nivel molecular que en conjunto, permiten elucidar la estructura del compuesto (Shriner, Hermann, Morrill, Curtin, & Fuson, 2004); (Hormaza, 2004).

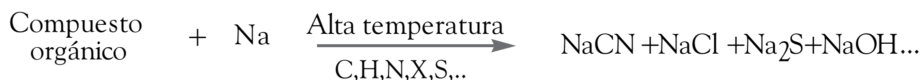
Reconocimiento de los elementos presentes en el compuesto

Precaución: debido al peligro que representa el sodio, este se debe manipular con pinzas o espátula y nunca con las manos. Además, se debe evitar que entre en contacto con el agua ya que reacciona de manera violenta. Los residuos de sodio se deben destruir con etanol. No se debe dejar mucho tiempo expuesto al aire libre porque reacciona con la humedad del aire y el dióxido de carbono. Algunos compuestos orgánicos como azidas, sales de diazonio, nitroalcanos, cloroformo y tetracloruro de carbono, reaccionan violentamente con sodio caliente.

En posición vertical, adicionar el compuesto a un tubo de ensayo *pyrex* que esté completamente seco, colocar dos trozos de sodio cúbicos y calentar rápidamente con llama hasta que el sodio funda. Retire la llama e inmediatamente adicione 0.1 g del compuesto (3 gotas si es líquido) previamente, mezclando con una cantidad igual de sacarosa directamente al sodio líquido. Seguido, se debe calentar el tubo de nuevo al rojo vivo durante 10 minutos para completar la reacción. Dejar enfriar el tubo hasta temperatura ambiente y adicionar 1 ml de etanol, gota a gota, con ayuda de una varilla de vidrio para destruir cualquier residuo de sodio. Finalmente, se adiciona agua destilada (10 ml) y agitar con la varilla. Se debe trasladar la solución a un erlenmeyer para adicionarle otros 10 ml de agua destilada a fin de retirar el residuo negro. Se calienta hasta ebullición la solución y se filtra en caliente. Este filtrado incoloro se utiliza en la determinación de nitrógeno, azufre y halógenos (Shriner, Hermann, Morrill, Curtin, & Fuson, 2004).

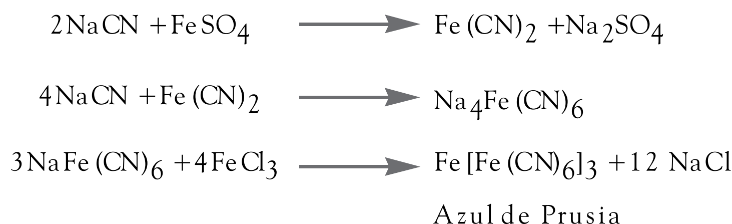
Nitrógeno, halógenos y azufre. Para realizar la determinación de estos elementos se deben usar pruebas que se basan en reacciones de tipo inorgánico, para lo cual se debe realizar un pretratamiento a la muestra orgánica, pues esta no puede ser aplicada directamente para estas pruebas ya que los átomos de halógeno, nitrógeno y azufre, en estos compuestos no se encuentran ionizados como se requiere. Por tal razón, se debe primero convertir tales elementos en

sustancias totalmente ionizadas inorgánicas y poder así realizar la determinación. El método más conocido para este fin es la fusión con sodio que se explicó previamente. Este método permite obtener el cianuro de sodio (NaCN), haluros de sodio (NaX), sulfuro de sodio (Na_2S), etc. Estos compuestos están totalmente ionizados y pueden por tanto, ser detectados por las pruebas convencionales inorgánicas (Hormaza, 2004).



Nitrógeno. Se toman 3 ml del filtrado de carácter alcalino (si no está alcalino, se debe agregar hidróxido de sodio al 20 % hasta lograr el carácter alcalino) y se tratan con sulfato ferroso y cloruro férrico acuoso en caliente por unos minutos hasta ebullición; seguidamente, se debe acidificar con ácido clorhídrico al 25 % hasta disolver los hidróxidos de hierro. La presencia de nitrógeno en la muestra se evidencia con la formación de un precipitado azul brillante correspondiente al azul de Prusia (Zuluaga, Insuasty & Yates, 1999).

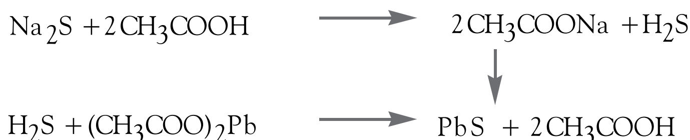
Nota: un color verde en el precipitado puede indicar que el nitrógeno probablemente se encontraba en la muestra original, pero que la fusión con sodio fue incompleta, en cuyo caso se debe repetir la prueba.



Fuente: Hormaza, 2004.

Procedimiento alterno. Tres mililitros del filtrado se acidifican con ácido acético, se añaden dos gotas de una solución fresca de bencidina al 1 % en ácido acético al 50 % y se mezcla. Se añade una gota de sultato de cobre (II) y se genera un color azul de prusia si hay nitrógeno.

Determinación de azufre. Para determinar la presencia de azufre en el compuesto original, se debe tomar unos mililitros del filtrado alcalino obtenido anteriormente y se debe acidificar con ácido acético; posteriormente, tratarla con una solución acuosa de acetato de plomo. La presencia de azufre se evidencia por la formación de un precipitado de color marrón o negro que corresponde al sulfuro de plomo.



También se puede detectar el azufre con dos gotas de una solución de nitroprusiato de sodio añadidas a 1 ml de la solución proveniente de la fusión con sodio, lo cual genera un color violeta-rojizo si hay presencia de azufre.



Determinación de halógenos. Se deben tomar 2 ml de la solución alcalina proveniente de la fusión con sodio y se debe acidificar con ácido nítrico. Posteriormente, se debe calentar hasta ebullición para eliminar HCN y H_2S, a fin que no interfieran en la prueba. Finalmente, se debe tratar la solución con nitrato de plata para que precipiten los haluros de plata correspondientes.



Otra prueba cualitativa muy eficiente para reconocer la presencia de halógenos consiste en calentar a la llama una porción de alambre de cobre impregnada con el compuesto. La formación de una llama verde brillante confirma la presencia del halógeno en la muestra (prueba de Beilstein).

Carbono, hidrógeno y oxígeno. La mayoría de los elementos presentes en compuestos orgánicos son C, H y O. La prueba de reconocimiento del carbono e hidrógeno consiste básicamente en calentar la sustancia en un tubo en presencia de óxido de cobre pulverizado y completamente seco, para formar CO_2 y H_2O. Al introducir los gases generados en una solución de hidróxido de bario o calcio, se reconoce la presencia de carbono por la generación de un precipitado de carbonato y la condensación de gotas de agua en las paredes del tubo frío permite determinar la presencia del hidrógeno. El oxígeno se determina por diferencia de la sumatoria de los otros elementos (C, H), sumando en total un 100 %.

Materiales

- 4 tubos de ensayo con desprendimiento lateral.
- 1 manguera.
- Corchos.
- 1 gradilla con tubos de ensayo.

- 3 pinzas para tubos de ensayo.
- 1 malla de asbesto.
- 1 gotero.
- Papel filtro.
- 1 espátula.
- 1 varilla de vidrio.
- 2 pipetas graduadas (de 1 y de 5 ml).
- Papel tornasol o papel indicador.
- 5 vasos de precipitado.
- 1 alambre de cobre.
- 1 mechero.
- 1 equipo de filtración a gravedad.

Reactivos

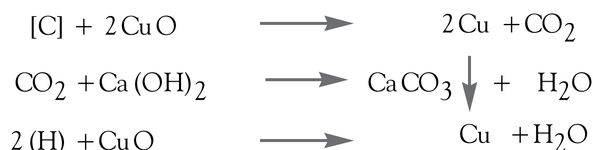
- Compuesto orgánico.
- Sacarosa.
- Óxido de cobre (CuO).
- Hidróxido de calcio o bario.
- Compuesto halogenado.
- Sodio metálico.
- Sulfato ferroso 5 %.
- Ácido sulfúrico 20-25 %.
- Cloruro férrico 5 %.
- Ácido acético.
- Acetato de plomo 10 %.
- Nitroprusiato de sodio 5 %.
- NaOH 10 %.
- Ácido nítrico 10 %.
- Nitrato de plata 5-10 %

Procedimiento

Determinación de carbono e hidrógeno

1. Adicionar al tubo I, 2 g de óxido de cobre bien pulverizado y bien seco.
2. Calentar con cuidado por unos minutos en un mechero y adicionar azúcar.

3. Tapar con corcho.
4. Adicionar al tubo II, 5 ml de una solución de hidróxido de calcio.
5. Calentar la mezcla del tubo I y esperar hasta que los gases formados entren al tubo II a través del desprendimiento. La formación de un precipitado de carbonato de calcio evidencia la presencia de carbono y las gotas de agua evidencian la presencia de hidrógeno.
6. Anotar las observaciones en el cuaderno.



$$[C] + 2CuO \longrightarrow 2Cu + CO_2$$

$$CO_2 + Ca(OH)_2 \longrightarrow CaCO_3 \downarrow + H_2O$$

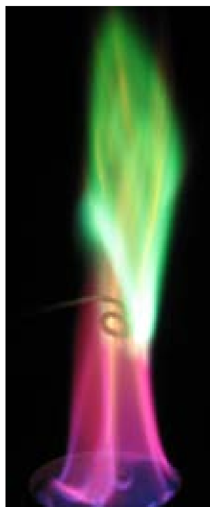
$$2(H) + CuO \longrightarrow Cu + H_2O$$

Fuente: Hormaza, 2004.

Determinación de halógenos

Prueba de Beilstein. Impregnar con un poco de la solución de la muestra problema (compuesto orgánico halogenado) la punta del alambre de cobre y calentar en una llama por unos minutos. La formación de una coloración verde brillante es prueba de la presencia de halógenos (ver Figura 4). Sin embargo, los compuestos nitrogenados también dan positiva a esta prueba, por lo cual se debe tener especial cuidado.

Figura 4
Llama verde en la prueba de Beilstein



Fuente: amazingrust.com/

Determinación de azufre. Medir dos volúmenes de 3 ml de la solución obtenida de la fusión con sodio en vasos de precipitados diferentes. Al primero de ellos acidificar con ácido acético y verificar con papel indicador. Calentar hasta ebullición y adicionar dos gotas de la solución de acetato de plomo al 10 %. La formación de PbS se evidencia por la formación de un sólido negro. A la otra porción, agregar dos gotas de nitroprusiato de sodio y verificar la coloración violeta por la presencia de azufre.

Determinación de nitrógeno. Tomar un volumen pequeño de la solución de fusión con sodio y agregar 5 ml de una solución recién preparada de sulfato ferroso y aproximadamente 2 ml de NaOH 10 % para alcalinizar la solución. Se debe formar un precipitado, el sulfuro de hierro. Se procede a acidular la solución con ácido sulfúrico 20 % y se añaden dos gotas de cloruro férrico. La prueba es positiva si se forma un precipitado azul brillante que corresponde al azul de Prusia.

Nota: no se debe adicionar demasiado volumen del ácido. Si no se forma un precipitado, pero la coloración de la solución es azul, esperar un tiempo y filtrar; se observará rastros del sólido en el papel filtro correspondiente al azul de Prusia.

Determinación de halógenos. Tomar un pequeño volumen de la solución proveniente de la fusión con sodio y acidificar con ácido nítrico al 10 %. Si alguna de las pruebas de azufre y nitrógeno resulta positiva, se debe calentar el compuesto a ebullición por más de 10 minutos para que el ácido cianhídrico (HCN) y el ácido sulfhídrico (H_2S) se eliminen por completo. En ese momento, adicionar 5 ml de solución de nitrato de plata al 10 % y calentar a ebullición por unos minutos. Si se forma un precipitado consistente, este corresponde a la presencia de halógenos. Una leve turbidez en cambio, podría deberse solo a la presencia de impurezas provenientes de los pasos anteriores.

Cuestionario

1. Escribir las ecuaciones balanceadas de todas las reacciones realizadas durante la práctica.
2. ¿Cuál es la razón del calentamiento de la solución en la determinación de halógenos?
3. ¿Por qué debe ser alcalina la solución en la determinación de nitrógeno?
4. ¿A qué se debe la formación del color verde en la llama para la prueba de Beilstein?

5. ¿Para qué se realiza la fusión con sodio de un compuesto orgánico? ¿Por qué no se determina de manera directa la presencia de los elementos sin hacer la fusión?
6. ¿Qué otros procedimientos existen para hacer la determinación de nitrógeno?
7. Investigar otro procedimiento alterno a la fusión con sodio para ionizar los elementos determinados en esta práctica.

Práctica 4
Extracción de bixina a partir de achiote (*Bixa orellana l.*)

Objetivos

- Comprender el proceso y los principios de la técnica de extracción sólido-líquido por la técnica Soxhlet.
- Aplicar la técnica de extracción al aislamiento y la purificación de bixina, un producto natural.

Introducción

La extracción de muestras sólidas con disolventes, conocida como extracción sólido-líquido o lixiviación, es la separación de uno o varios compuestos a partir del contacto con un solvente de la matriz que contiene el compuesto de interés, gracias a interacciones físicas o a una reacción química que rompen la interacción del compuesto dentro de la matriz sólida, logrando así su liberación (Valderruten & Usher, 2009b). La lixiviación tiene gran aplicación en industrias alimentarias, farmacéuticas y mineras. Ejemplos de este proceso en la industria química son la extracción del azúcar de la remolacha o de la caña con agua caliente en la industria azucarera, la de los aceites vegetales de cacahuete, soja, girasol y otras semillas con disolventes orgánicos, la del cobre con ácido sulfúrico o disoluciones amoniacales y la del cobalto y níquel con aminas terciarias (Verlag Stuttgart, 1987); (Guarnizo & Martínez, 2009); (Ocampo, Ríos, Betancur, & Ocampo, 2008).

La semilla del achiote (ver Figura 5), es rica en un pigmento rojo, con gran aplicación en la industria alimentaria como colorante, constituido por una mezcla

de carotenoides como la bixina, la norbixina, el fitoeno y el caroteno. También están constituidas por terpenos, aceites, flavonoides, tocotrienoles, saponinas y algunos compuestos fenólicos, que justifican su aplicación terapéutica como planta medicinal. Sus extractos alcohólicos se han considerado antioxidantes y analgésicos. También se ha usado tradicionalmente como antidiarreico, antidiabético, purgante, entre otros. Se prepara como un gel con el extracto de las semillas para uso tópico contra quemaduras. La bixina tiene aplicación en la industria de los cosméticos en forma de crema, como filtro solar y como repelente, entre otros Achiote (*Bixa orellana*), (Vademecum de plantas medicinales, 2008).

En esta práctica se utilizará la técnica soxhlet para extraer bixina a partir del achiote. Esta técnica es empleada a menudo para extraer productos naturales sólidos de una planta. El solvente seleccionado debe disolver selectivamente al compuesto de interés y no a otros sólidos presentes en el material de partida (Lamarque, y otros, 2008).

Figura 5
Semilla de achiote



Fuente: Infojardín.

Materiales

- 1 balón de fondo plano de 500 ml.
- 1 baño María.
- 1 probeta de 25 ml.
- 1 condensador de bolas para destilación.
- 2 mangueras.
- 2 soportes universales.
- 2 beakers de 25 ml.
- 2 pinzas pequeñas con nuez.
- 3 perlas de ebullición.

- 1 frasco lavador.
- 1 vidrio reloj.
- 1 espátula.

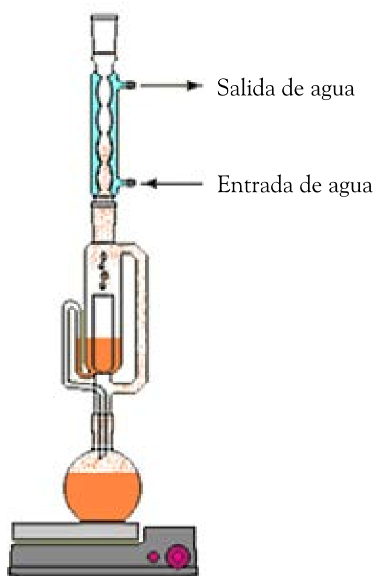
Reactivos

- 50 g semillas de achiote.
- Agua destilada (H_2O).
- Etanol (CH_3CH_2OH).

Equipos

- 1 plancha de calentamiento-agitación.
- 1 equipo Soxhlet.
- 1 rotaevaporador.

Figura 6
Montaje experimental Soxhlet



Fuente: Guidotti, 2004.

Protocolo

- Armar el montaje de la Figura 6.

- Adicionar 100 ml de etanol al balón y 50 g de semillas de achiote.
- Calentar la mezcla hasta alcanzar la temperatura de ebullición.
- Realizar tres ciclos de extracción con el equipo Soxhlet.
- Retirar el balón y dejar enfriar un poco su contenido.
- Evaporar el solvente en el rotaevaporador y registrar el peso del extracto.
- Evaluar la pureza del compuesto por cromatografía de capa fina usando como fase móvil una mezcla de 9.4 ml de cloroformo con 0.6 ml de metanol.
- Tomar el *Rf* de cada punto en la placa.

Cuestionario

1. Describir la función de cada una de las partes de un extractor Soxhlet.
2. Describir otros tipos de extracción que exista y tecnologías alternativas. Explicar el fundamento teórico de dichas técnicas.
3. Dibuja la estructura química de la bixina, de los carotenoides, de algunos terpenos y flavonoides presentes en la semilla del achiote.
4. Investigar aplicaciones industriales de la bixina con sus nombres comerciales.
5. Investigar qué es el Rf de un compuesto y cómo se determina.

Práctica 5
Cromatografía: aislamiento y purificación de una mezcla de compuestos coloreados

Objetivos

- Estudiar los principios que rigen el proceso de la cromatografía sólido-líquido.
- Aplicar la técnica de cromatografía para la separación de una mezcla de compuestos coloreados.

Introducción

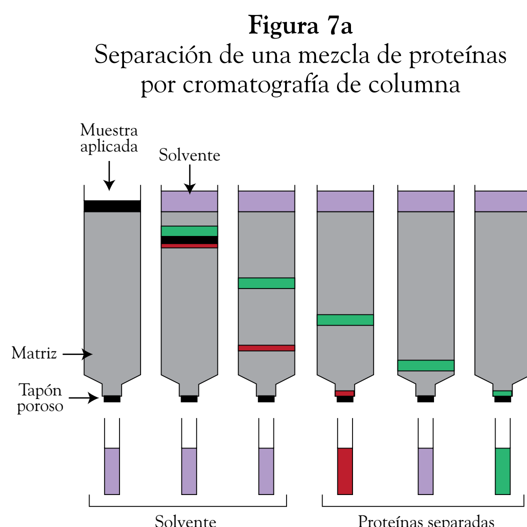
La cromatografía es una técnica que permite la separación y purificación de sustancias con base en las diferencias de adsorción entre dos fases: una móvil y una estacionaria. Existen diferentes cromatografías, según las fases involucradas: sólida-líquida (cromatografías de columna, de capa delgada y de papel), líquido-líquido (cromatografía líquida de alta resolución) y gas-líquido (en fase de vapor) (Boschmannn & Wells, 1990); (Ciudad Universitaria, 2009); (Durst & Gokel, 1985); (Gilbert & Martin, 2006); (Guarnizo & Martínez, 2009); (Insuasty & Ramírez, 2008).

La cromatografía de columna se basa tanto en la solubilidad como en la adsortividad de los compuestos entre las dos fases. Como fase estacionaria (insoluble en la fase móvil) generalmente se utiliza sílica gel (SiO_2. xH_2O) o alúmina (Al_2O_3. xH_2O) con un tamaño de partícula muy fino. La separación exitosa depende, en gran medida, de la fortaleza de adsorción de los compuestos sobre las partículas de la fase estacionaria, lo cual depende, a su vez, de su estructura

molecular (polaridad). Sin embargo, siempre se establece un equilibrio de distribución de los compuestos entre el adsorbente y el solvente (Lamarque, y otros, 2008); (Verlag Stuttgart, 1987).

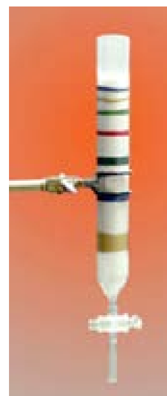
Una técnica cromatográfica más sencilla que se utiliza para analizar la separación de una mezcla de compuestos es la cromatografía de capa fina que se basa en la preparación de una capa uniforme, de un adsorbente sobre una placa de vidrio o de aluminio. El desarrollo del cromatograma en capa fina se realiza normalmente por el método ascendente, esto es, al permitir que un eluyente ascienda por una placa casi en vertical, por la acción de la capilaridad (Ramírez, Argoti, & Valderruten, 2007); (Ocampo, Ríos, Betancur, & Ocampo, 2008).

Figura 7a
Separación de una mezcla de proteínas por cromatografía de columna



Fuente: Quimbiotec, 2010.

Figura 7b
Columna cromatográfica típica con una fase estacionaria de sílica gel



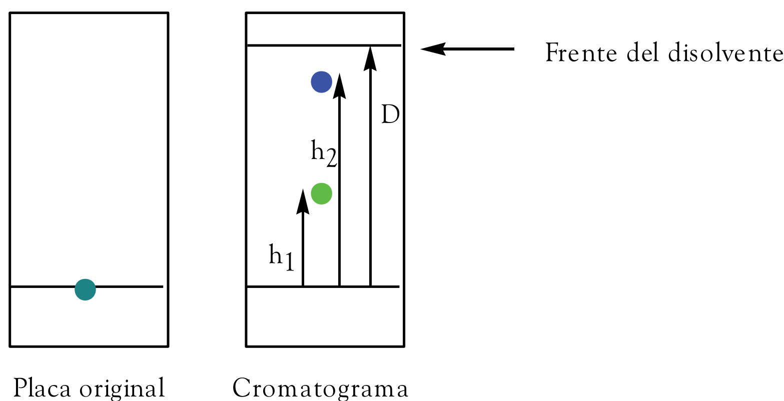
Fuente: La guía.

La mezcla que se desea separar se disuelve en una pequeña cantidad del solvente orgánico de bajo punto de ebullición para evaporarlo fácilmente luego del experimento y con un capilar de punta muy fina se realiza un toque sobre la placa. Estos toques deben quedar ubicados sobre una línea margen a una distancia del borde inferior de un centímetro aproximadamente. Esto se hace para caracterizar los valores de *Rf*. La constante *Rf* (ver Figura 8) expresa la posición de un compuesto sobre una placa y mide la retención de un componente. Se define como el cociente entre la distancia recorrida por el soluto y la distancia recorrida por el solvente.

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por la sustancia}}{\text{distancia recorrida por el frente del solvente}} = \frac{X}{Y} \qquad \text{(Ecuación 5.1)}$$

Figura 8

Cromatografía de capa fina. Descripción del frente de la medición y cálculo de la constante Rf para un compuesto



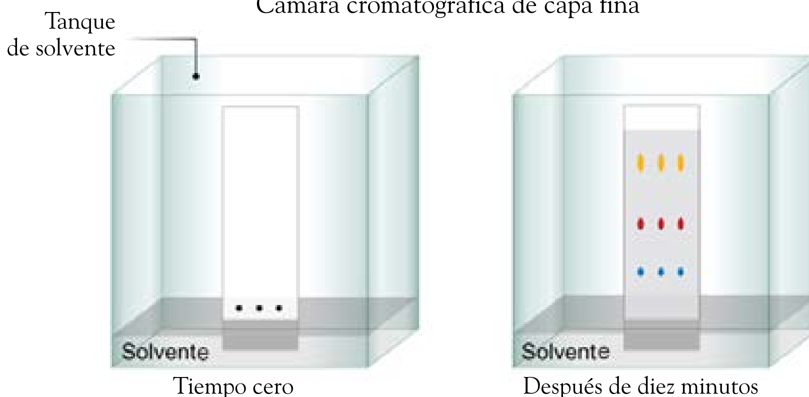
$$Rf(1)=h_1/D$$

Fuente: Adaptado de Rodríguez, 2004.

La cromatografía de capa fina (ver Figura 9) es una técnica útil en química orgánica, puesto que permite comparar la identidad de sustancias, determinar el número de compuestos en una mezcla, determinar el solvente adecuado para separar los compuestos por cromatografía de columna, seguir la separación de una mezcla de compuestos por cromatografía de columna, comprobar la efectividad de una separación, controlar el progreso de una reacción y verificar la pureza de un compuesto.

Figura 9

Cámara cromatográfica de capa fina



Fuente: www.waters.com

Materiales

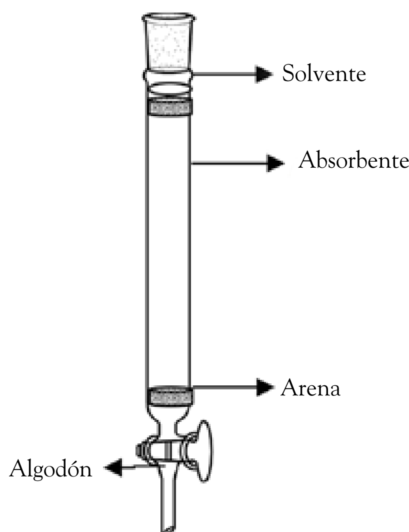
- 1 probeta de 25 ml.
- 2 Erlenmeyers de 50 ml.
- 2 vasos de precipitado de 100 ml.
- 5 vasos de precipitado de 50 ml
- 5 tubos de ensayo.
- 5 tapones de caucho.
- 1 varilla de vidrio.
- 1 frasco lavador.
- 1 papel de filtro.
- 1 vidrio de reloj.
- 1 soporte para embudo de separación.
- 1 espátula.
- 1 embudo de caña corta.
- 1 columna pequeña de cromatografía.
- 4 goteros.
- 4 capilares de punta fina.
- 1 pinza con nuez.
- 1 soporte universal.
- Placas de sílica.
- Algodón.
- Papel aluminio.

Reactivos

- Alúmina (Al_2O_3).
- Sílica ($SiO_2 \cdot xH_2O$).
- Arena para cromatografía.
- Hexano (C_6H_{14}).
- Diclorometano (CH_2Cl_2).
- Tolueno ($C_6H_5CH_3$).
- Acetona (CH_3COCH_3).
- Acetato de etilo ($CH_3COOCH_2CH_3$).

– Azul de bromotimol.
– *p*-nitrofenol.
– Cloroformo ($CHCl_3$).
– Agua destilada (H_2O).
– Etanol (CH_3CH_2OH).
– Metanol (CH_4O).
– Cloruro de sodio.
– Sulfato de sodio anhidro.

Figura 10
Montaje experimental de una columna.



Fuente: el autor.

Protocolo

Cromatografía en columna

1. Colocar la columna en posición vertical y fijar con las pinzas sin presionar demasiado para evitar que se quiebre. Colocar un trozo de algodón en la parte inferior de la columna para evitar la salida de la fase estacionaria.

2. Llenar la columna con el solvente hasta aproximadamente la mitad de su volumen.

3. Agregar un poco de arena blanca o sulfato de sodio anhidro hasta formar una pequeña capa.
4. Adicionar lentamente el material adsorbente con cuidado de que no queden burbujas; que sea compacto sin que quede demasiado apretado para que permita el paso de las moléculas del solvente.
5. Golpear con suavidad a los lados de la columna (preferiblemente con una manguera plástica) para que la columna quede uniforme, horizontal y sin burbujas de aire. Si se observa que la fase estacionaria no está compacta o que hay demasiadas burbujas de aire es mejor rehacer la columna.
5. Adicionar una pequeña cantidad de arena o sulfato de sodio anhidro (aproximadamente 5 mm) para proteger la fase estacionaria.
6. Eliminar el exceso de solvente, cuidando de no disminuir el nivel de solvente por debajo de la fase estacionaria.

Elución

1. Preparar una disolución con la mezcla problema, lo más concentrada posible (no más de 5 ml del eluyente).
2. Asegurar que el nivel del eluyente en la columna esté justo encima de la arena (nunca permitir que esté por debajo, para evitar que se seque la columna).
3. Aplicar cuidadosamente la mezcla con ayuda de un gotero de punta larga sobre la arena de manera uniforme.
4. Abrir la llave de la columna y permitir que se introduzca toda la mezcla hasta que quedar a ras con la arena. Adicionar la mezcla eluyente.
5. Observar si el disolvente permite la separación de bandas que se diferencien en la columna, de lo contrario agregar un disolvente de mayor polaridad.
6. Colectar la fracción correspondiente a cada color en tubos de ensayo o en un matraz.
7. Se debe permitir la salida del eluyente con una velocidad aproximada de 2 ml/7 min, de lo contrario se corre el riesgo de que no haya una buena separación.
8. También se puede usar una lámpara UV para revelar los componentes en caso de que no sean coloreados.
9. Evaporar y recuperar el solvente de cada fracción, guardar los colorantes en recipientes debidamente rotulados.

Posibles mezclas para separar

1. Mezcla 1:1 bromotimol y *p*-nitrofenol (metanol).
2. Clorofila extraída de espinaca (hexano, hexano: diclorometano (50:50), diclorometano).
3. Mezcla de ácido benzoico con azul de metileno (hexano, acetato de etilo).

Cromatografía en capa fina

1. Un vaso de precipitados de 50 ml con papel aluminio sirve como cámara de cromatografía. Adicionar una cierta cantidad del eluyente al vaso hasta que la altura del solvente, desde el fondo hacia arriba sea de 5 mm aproximadamente.
2. Colocar un papel filtro mojado con el eluyente dentro del vaso y tapar con vidrio reloj.
3. Marcar suavemente con un lápiz una línea recta y horizontal a 1 cm del borde de una placa y señalar 2 puntos a intervalos de 1 cm; en ellos se aplicará cada muestra. No tocar el adsorbente con los dedos.
4. Aplicar con un capilar de punta fina, en los dos puntos señalados, la mezcla a separar.
5. Introducir la placa en el vaso utilizando pinzas y asegurarse de que el disolvente no cubra la línea donde se han depositado las muestras.
6. Tapar el vaso con vidrio reloj, dejar ascender el disolvente hasta aproximadamente 0.5 cm del borde superior y marcar el punto máximo alcanzado por el frente del disolvente.
7. Secar al aire la placa y señalar las manchas con lápiz, registrar los colores. Si los colores son muy claros, los puede revelar bajo luz ultravioleta.
8. Calcular los valores R_f de los compuestos

Cuestionario

1. Dibuje la estructura de los compuestos que fueron aislados con las técnicas cromatográficas y sus aplicaciones en la industria.
2. Consulte sobre la polaridad de los disolventes empleados en la cromatografía de columna y sugiera otros disolventes que podría utilizar en cada paso.
3. ¿Cuál es la función del papel filtro en la cubeta de cromatografía en capa fina?

4. Escriba una lista de solventes utilizados en cromatografía de columna en orden de polaridad decreciente.
5. ¿Cuál es la utilidad de la cromatografía de capa fina?
6. Compare la cromatografía en papel con la cromatografía en capa delgada. Anote las similitudes y diferencias.

Práctica 6
Síntesis de ácido acetilsalicílico (Aspirina). Purificación de un compuesto por recristalización

Objetivos

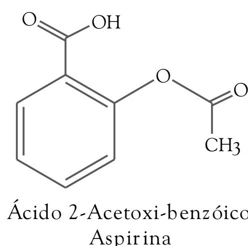
– Preparar ácido acetilsalicílico (Aspirina) mediante una reacción de esterificación de ácidos carboxílicos.
– Purificar el producto obtenido mediante la técnica de recristalización.
– Verificar la pureza del ácido acetilsalicílico mediante su punto de fusión.
– Determinar el rendimiento de la reacción.

Introducción

Una sustancia pura tiene una composición y propiedades definidas que no varían. Las sustancias químicas se deben purificar luego de su síntesis o aislamiento de una fuente natural, a partir de sus propiedades físicas (solubilidad, punto de fusión, punto de ebullición). Los compuestos orgánicos sólidos a temperatura ambiente suelen purificarse por recristalización. Esta técnica involucra la disolución del sólido en un solvente caliente (o una mezcla de solventes) y el enfriamiento lento de la solución saturada permite cristalizar o precipitar el sólido (García Sánchez, 2002). Las condiciones de selección de un solvente para un proceso de recristalización dependen fundamentalmente de la capacidad de solubilizar el sólido en caliente y no en frío, de forma que solo las impurezas se solubilicen; no debe reaccionar con el compuesto; su punto de ebullición

debe ser menor que el punto de fusión del sólido y ser relativamente bajo para removerlo del sólido fácilmente. Para la síntesis de compuestos que se pretendan usar como fármacos, hay que garantizar una elevada pureza (Durst & Gokel, 1985); (Gilbert & Martin, 2006); (Insuasty & Ramírez, 2008); (Lamarque, y otros, 2008); (Primo, 1995).

Esquema 1
Estructura química del ácido acetil salicílico, Aspirina



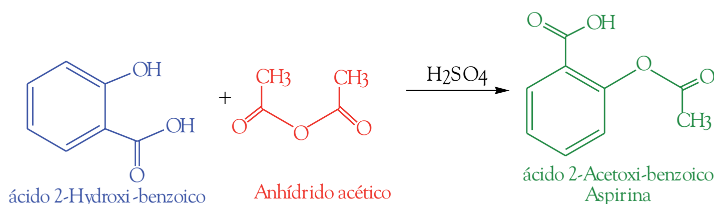
Ácido 2-Acetoxi-benzóico
Aspirina

Fuente: el autor.

La Aspirina (ácido acetilsalicílico, ácido 2-acetoxibenzoico, Esquema 1) es uno de los medicamentos de mayor uso y consumo mundial desde que fue sintetizado en 1899, por su conocida acción analgésica, antipirética y antiinflamatoria (Ramírez, Argoti, & Valderruten, 2007); (Hormaza, 2004).

Hace mucho tiempo se descubrió que en la corteza de los sauces (*Salix alba*) existía un compuesto capaz de disminuir la fiebre en pacientes. Dicho compuesto se conoció como salicina (un glicósido de sabor amargo) el cual se puede convertir en alcohol salicílico al hacerlo reaccionar con agua y por oxidación genera el ácido salicílico. Este ácido es efectivo para disminuir la fiebre, pero tiene efectos colaterales en la salud. Cuando un compuesto activo tiene efectos colaterales, se procede a buscar un sustituto de estructura química análoga y con un componente activo igual o más poderoso que el compuesto original, pero con menos efectos colaterales. En este caso, la esterificación del ácido salicílico permite obtener un compuesto de similar actividad, pero con la ventaja de que presenta menores efectos adversos. La reacción de preparación industrial se muestra a continuación (Durst & Gokel, 1985):

Esquema 2
Ecuación de la reacción entre el ácido salicílico y el anhídrido acético



Materiales

- 1 varilla de vidrio.
- 1 balón de 50 ml de fondo plano.
- 1 vaso de precipitados de 400 ml.
- 1 equipo de filtración al vacío.
- 1 vaso de precipitados de 100 ml.
- 1 vaso de precipitados de 250 ml.
- 1 frasco lavador.
- 1 pipeta de 1 ml.
- 1 probeta de 50 ml.
- 1 espátula.
- 1 gotero.
- 1 vidrio reloj.
- 1 propipeta.
- 1 mortero y mazo.
- Papel indicador de pH.
- Papel filtro.
- 1 lámpara U.V.
- 1 plancha de calentamiento.
- 1 bomba de vacío.
- 1 estufa de secado.

Reactivos

- Ácido salicílico.
- Anhídrido acético.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Bicarbonato de sodio.
- Ácido clorhídrico concentrado

Protocolo

1. Agregar 1 g de ácido salicílico previamente pulverizado en un balón de fondo plano de 50 ml.
2. Adicionar al balón 2 ml de anhídrido acético y tres gotas de ácido sulfúrico.
3. Mezclar y calentar en baño María por 20 minutos.
4. Una vez finalizado, retirar el balón del baño y agregar 5 ml de agua-hielo. Enfriar en un baño de hielo.

5. Filtrar el producto al vacío.
6. Lavar con agua fría y secar a temperatura ambiente el sólido.
7. Determinar el rendimiento de la reacción por gravimetría.
8. Adicionar 10 ml de una solución saturada de bicarbonato de sodio y el ácido acetilsalicílico obtenido previamente en un vaso de precipitados de 150 ml; adicione hasta finalizar la efervescencia. Cualquier impureza de carácter polimérico permanecerá sin disolver, por lo cual se debe separar por filtración.
9. En un vaso de precipitados preparar una solución de 3.5 ml de ácido clorhídrico y 10.0 ml de agua. Verter sobre esta solución cuidadosamente y con agitación, el filtrado que contiene el ácido acetilsalicílico, el cual debe precipitar en este punto siempre que el pH de la solución sea ácido. Enfriar la mezcla en baño con hielo, filtrar el sólido al vacío y lavar los cristales varias veces con pequeñas porciones de agua fría. Colocar los cristales obtenidos sobre un vidrio de reloj y dejar secar para determinar el punto de fusión del sólido. Determinar el porcentaje de recuperación de la recristalización.

Recomendaciones: si la solución generada luego de disolver el ácido acetilsalicílico es coloreada, se recomienda adicionar un poco de carbón activado para adsorber las impurezas y filtrar en caliente. El proceso de recristalización se puede probar con otros solventes. Se debe seleccionar uno que cumpla las características apropiadas mencionadas arriba y una vez finalizado el proceso de solubilización, el sólido debería precipitar lentamente a temperatura ambiente o con ayuda de un baño de hielo.

Cuestionario

1. ¿Cuál podría ser el subproducto polimérico obtenido en la reacción?
2. ¿Cuál es el mecanismo de acción de la aspirina en el organismo y en qué consisten los efectos analgésicos y antipiréticos que se le atribuyen?
3. ¿En qué consiste la prueba del cloruro férrico y para qué se usa?
4. ¿Cuál es el rendimiento teórico de la reacción de obtención del ácido acetilsalicílico? ¿Qué pasa si se usan 10 g de ácido salicílico en la reacción en lugar de 1 g?
5. ¿Cuál es la estructura del compuesto que se forma en la reacción del cloruro férrico con aspirina?

Práctica 7
Pruebas de caracterización de alcoholes

Objetivos

- Analizar la reactividad de los alcoholes mediante pruebas cualitativas sencillas.
- Caracterizar las propiedades físicas de los alcoholes con ensayos de solubilidad en diversos solventes.

Introducción

Los alcoholes son compuestos ampliamente distribuidos en la naturaleza y tienen diversas aplicaciones de tipo industrial o farmacéutico. El metanol y el etanol son ejemplos de alcoholes ampliamente utilizados en la industria (Carey, 2003). El metanol se emplea como solvente y materia prima para obtener resinas, adhesivos y formaldehído, y es conocido como el "alcohol de madera" porque antiguamente se obtenía por calentamiento de la madera en ausencia de aire. Es extremadamente tóxico para el hombre; le ocasiona ceguera incluso en dosis muy bajas (10-15 ml) y la muerte en dosis mayores (100-250 ml) (Lamarque, y otros, 2008); (McMurry, 2008); (Morrison & Boyle, 1987). Actualmente se obtiene por reducción catalítica del monóxido de carbono con hidrógeno gaseoso (Esquema 3).

Esquema 3
Hidrogenación catalítica del monóxido de carbono para la obtención de metanol



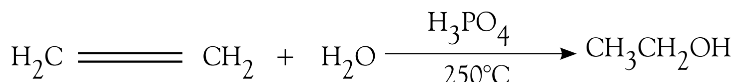
$$CO + 2H_2 \xrightarrow[\text{óxido de zinc/cromo}]{400°C} CH_3OH$$

El etilenglicol tiene aplicaciones como anticongelante, como descongelante y como solvente, importantes durante la temporada de invierno en países de cuatro estaciones y con frío extremo. También se aplica en tintes, sistemas hidráulicos y otros productos industriales. En la naturaleza se encuentran ampliamente distribuidos alcoholes como el colesterol, imprescindible para la vida y la sacarosa o azúcar de mesa, entre otros (Primo, 1995); (Durst & Gokel, 1985).

El etanol se ha preparado desde hace muchos siglos por fermentación de granos y azúcares, y su purificación aún se lleva a cabo por destilación. En Estados Unidos, su producción anual se acerca a los 100 millones de galones y se usa como intermediario para otras materias primas o como químico (Esquema 4) (McMurry, 2008).

Esquema 4

Producción de etanol a partir de la hidrólisis de eteno



Los alcoholes presentan un grupo hidroxilo (-OH) enlazado a un carbono con hibridación sp^3. Se consideran derivados del agua (H-O-H) ya que un hidrógeno de su estructura ha sido reemplazado por un grupo alquilo y su fórmula general sería entonces R-OH. Los puntos de ebullición de los alcoholes son superiores a los de los hidrocarburos, los haluros de alquilo y los éteres de tamaño similar, debido a la posibilidad de formar puentes de hidrógeno por la presencia del grupo hidroxilo (McMurry, 2008). Este grupo le confiere también una mayor solubilidad en solventes polares como el agua; sin embargo, a medida que la cadena de carbonos crece, el alcohol se va pareciendo más a un hidrocarburo y su solubilidad en agua disminuye (Primo, 1995).

Los alcoholes presentan dos tipos de reacción: aquellas en las que se rompe el enlace O-H, en la cual se comportan como ácidos débiles ya que el grupo hidroxilo puede donar protones en presencia de metales activos o con un hidruro metálico (ver Esquema 5) y las que llevan al rompimiento del enlace C-O, en el cual se encuentran las reacciones de sustitución y de eliminación, principalmente (ver Esquema 6) (Morrison & Boyle, 1987); (Valderruten & Usher, 2009c).

Esquema 5

Reacciones de rompimiento del enlace O-H en alcoholes





Fuente: Valderruten, 2009.

Esquema 6

Reacciones de rompimiento del enlace C-O de alcoholes

R-OH —Tipo de reacción→ Productos

R-OH —Deshidratación→ Alquenos	R-OH —Esterificación→ R-O-CO-R´ Esteres
R-OH —Oxidación→ cetonas, aldehídos, ácidos	R-OH —Tosilación→ R-OTs Esteres tosilatos (Buen grupo saliente)
R-OH —Sustitución→ R-X haluros	R-OH —(1) Formación de alcóxido (2) R´X→ R-O-R´ éteres
R-OH —Reducción→ R-H Alcanos	

Fuente: (Wade, 2006); (Valderruten, 2009).

Materiales

- 9 tubos de ensayo pequeños.
- 1 tubo de ensayo grande.
- 1 pipeta graduada (1 ml).
- 1 propipeta.
- 1 gradilla.
- 1 gotero.
- 1 vaso de precipitados de 25 ml.
- 1 frasco lavador.
- 1 plancha de calentamiento.

Reactivos

- Éter de petróleo.
- Ácido acético glacial.
- Ácido butanoico.
- Ácido sulfúrico.
- 1-butanol.
- 2-butanol.
- 2-metil-2-propanol.
- Metanol.
- Etanol.
- Solución acuosa al 3 % de permanganato de potasio ($KMnO_4$).

Protocolo

Para estudiar la solubilidad de los alcoholes en agua y en un solvente orgánico, utilizar seis tubos de ensayo y adicionar 0.1 ml de alcohol (1-butanol, 2-butanol y 2-metil-2-propanol) en ellos. Adicionar 0.5 ml de agua destilada en los tres primeros y 0.1 ml de éter de petróleo en los últimos tres. Observar el aspecto de la solución para saber si es homogéneo o si se separan dos fases. Registrar cada uno de los resultados en el informe.

Oxidación de alcoholes

Adicionar 0.2 ml de solución de permanganato de potasio al 3 % a cada uno de los tres tubos de ensayo que contienen 0.1 ml de cada alcohol y mezclar. Observar lo que ocurre: si hay formación de un precipitado café y decoloración de la solución o si, por el contrario, no ocurre nada. Registrar los resultados en el informe.

Formación de ésteres

La formación de un éster se efectúa con la mezcla de un ácido carboxílico y un alcohol y se cataliza con un ácido mineral. En este caso se describe el proceso con ácido acético y 1-butanol. Verter 1 ml de ácido acético glacial, 1 ml de 1-butanol y de tres a cinco gotas de ácido sulfúrico concentrado en un tubo de ensayo y calentar. Posteriormente, transferir el contenido del tubo anterior a un vaso de precipitados con agua destilada. Observar si la solución tiene algún aspecto u olor característico y registrar las observaciones en el informe. Ensayar otras posibilidades de esterificación como ácido acético-metanol y + ácido acético-etanol de manera alterna y observar los resultados.

Cuestionario

1. ¿Mediante cuáles pruebas cualitativas se pueden diferenciar los alcoholes primarios, secundarios y terciarios?
2. Escriba las ecuaciones de las reacciones. Dibuje la estructura de cada reactivo y de cada producto y nómbrelos de acuerdo con la nomenclatura Iupac.
3. ¿Cuáles son los factores que determinan la solubilidad observada en las pruebas con los alcoholes?
4. ¿Qué es una reacción de esterificación? ¿Qué variantes existen? ¿Por qué se debe catalizar con ácido?
5. ¿Qué es una reacción de oxidación? ¿Qué es un agente oxidante y cuáles existen?
6. Plantee un mecanismo para la reacción de esterificación y uno para la oxidación de alcoholes.

Práctica 8
Pruebas de caracterización de aldehídos y cetonas

Objetivos

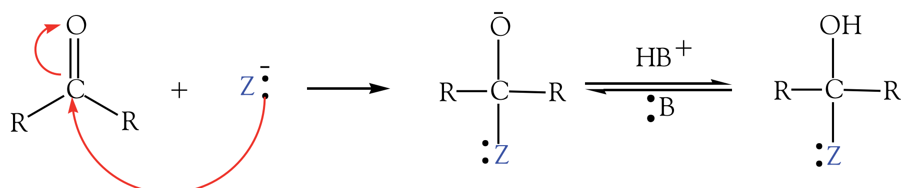
- Estudiar las reacciones de adición nucleofílica en aldehídos y cetonas con ayuda de pruebas cualitativas sencillas.
- Diferenciar la solubilidad de los aldehídos y cetonas en dos solventes característicos, a saber, agua y éter de petróleo.

Introducción

Los aldehídos y cetonas son compuestos que se encuentran presentes normalmente en la naturaleza y tienen aromas y olores característicos, en muchos casos agradables. El cinamaldehído por ejemplo, es el principio activo que genera el olor agradable y dulce de la canela y de la vainillina proveniente del árbol de vainilla y que también se obtiene de forma sintética; se usa en alimentos, fármacos y bebidas. Muchas resinas y materiales de aplicación en la construcción y en tableros se derivan del uso del formaldehido como materia prima. El alcanfor es una cetona y es el principio activo de plastificantes, repelentes, cremas, entre otras, provenientes del árbol *Cinnamonum camphora*. La carvona es otra cetona que se encuentra en aceites esenciales de muchas plantas y se usa en alimentos, agricultura, control de plagas, entre otros . Los carbohidratos son aldehídos o cetonas polihidroxilados, que aportan un contenido calórico y nutricional importante e inmediato (Valderruten & Usher, 2009d); (Carey, 2003); (McMurry, 2008).

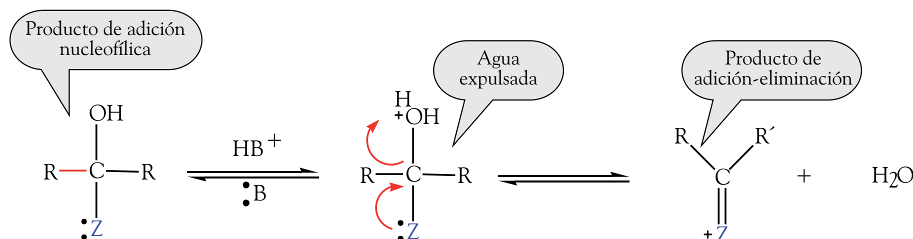
Los aldehídos y las cetonas son compuestos carbonílicos cuyo grupo funcional es el grupo carbonilo que determina su reactividad y comportamiento químico de manera similar; sin embargo, se diferencian por la facilidad con la que reaccionan. Los aldehídos tienen el carbono del grupo carbonilo unido a un hidrógeno y a un grupo alquilo (o arilo) y el carbono del carbonilo de las cetonas está unido a dos grupos alquílicos (arilos o combinados) más voluminosos, dificultando con ello el acercamiento de los nucleófilos (Durst & Gokel, 1985); (Morrison & Boyle, 1987). Sin embargo, de manera general se puede decir que reaccionan por adición, de suerte que el nucleófilo se adiciona al carbono del grupo carbonilo y se genera un compuesto tetraédrico que se puede protonar produciendo así un compuesto hidroxilado (ver Figura 11) que podría reaccionar de manera posterior por eliminación expulsando agua o ser reversible y eliminar el nucleófilo de partida, dependiendo de la fortaleza del nucleófilo y la estabilidad como base (Figura 12).

Figura 11
Reacción general de adición nucleofílica a un compuesto carbonílico



Fuente: Brown, LeMay, Bursten, & Murphy, 2009; Valderruten, 2009.

Figura 12
Esquema general de una reacción de adición nucleofílica-eliminación para un compuesto carbonílico

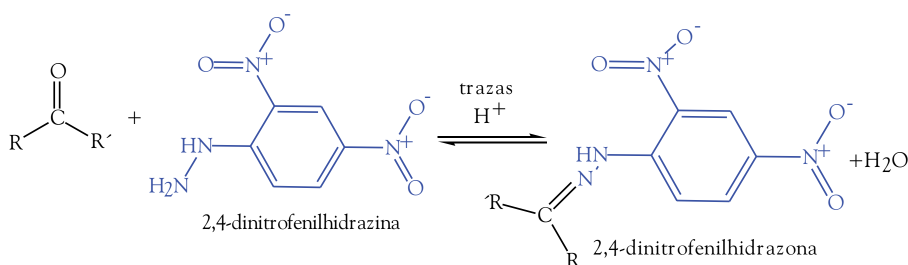


Fuente: Brown, LeMay, Bursten, & Murphy, 2009; Valderruten, 2009.

Una prueba de reconocimiento de la presencia de aldehídos y cetonas es la prueba con la 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNF), un nucleófilo de nitrógeno

que genera una reacción de adición-eliminación (ver Figura 13). Es una prueba que sirve además como modelo de otras reacciones químicas (oxazona, semicarbazona, oxima y otras arilhidrazonas). En esta reacción, la 2,4-DNF precipita de la solución en general, aunque muchas cetonas podrían dar dinitrofenilhidrazonas que son aceitosas. Ejemplos son la 2-decanona, 6-undecanona. Algunas sustancias podrían incluso fallar en el método (Shriner, Hermann, Morrill, Curtin, & Fuson, 2004); (Zuluaga, Insuasty, & Yates, 1999).

Figura 13
Reacción de un aldehído o cetona con la 2,4-dinitrofenilhidrazina

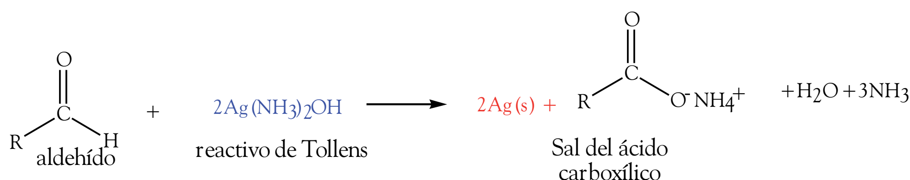


Fuente: Valderruten, 2009.

El color de la 2,4-DNF formada puede ser un indicativo del aldehído o cetona del cual se deriva. Las 2,4-DNF que se originan a partir de aldehídos y cetonas cuyos grupos carbonilos no están conjugados, son amarillas. Por el contrario, si la 2,4-DNF resulta roja, podría ser un indicativo de que el carbonilo del aldehído o cetona de partida está conjugado con un doble enlace o un anillo aromático.

Una prueba específica para aldehídos que sirve para descartar la presencia de cetonas es la reacción con el reactivo de Tollens, la cual permite obtener un espejo de plata (precipitación de plata elemental) por la reducción del ion Ag^{+} a Ag^{0} (ver Figura 14). El reactivo de Tollens es un oxidante suave y debe ser preparado previamente al análisis, ya que se descompone fácilmente (Insuasty & Ramírez, 2008); (Ramírez, Argoti, & Valderruten, 2007); (Verlag Stuttgart, 1987).

Figura 14
Reacción de un aldehído con el reactivo de Tollens



Materiales

- 9 tubos de ensayo pequeños.
- 1 pipeta graduada (1 ml).
- 1 propipeta.
- 1 plancha de calentamiento.
- 1 gradilla.
- 1 gotero.
- 1 vaso de precipitados de 25 ml.
- 1 frasco lavador.

Reactivos

- Éter de petróleo.
- Ciclohexanona.
- Butanona.
- 2-heptanona.
- Benzaldehido.
- Acetofenona.
- Acetona.
- Metanal
- Reactivo de Tollens.
- Reactivo de 2,4-dinitrofenilhidrazina.

Protocolo

Para estudiar la solubilidad de los aldehídos y cetonas en agua y en un solvente orgánico, utilizar seis tubos de ensayo y depositar 0.1 ml del aldehído o cetona (metanal, benzaldehído, ciclohexanona, butanona) en ellos. Adicionar 0.5 ml de agua destilada en los tres primeros y 0.1 ml de éter de petróleo en los últimos tres. Observar el aspecto de la solución: si es homogéneo o si se separan dos fases. Registrar cada uno de los resultados en el informe.

Reacción con 2,4-dinitrofenilhidrazina

La preparación del reactivo 2,4-DNF se realiza disolviendo 1 g de 2,4-DNF en 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (¡precaución!: el ácido sulfúrico concentrado es altamente corrosivo; manipule en la campana de extracción con mucho

cuidado). Adicionar la solución a una mezcla de 20 ml de agua destilada y 70 ml de etanol al 95 % con agitación. Mezclar por un tiempo prolongado y filtrar.

Marque tres tubos de ensayo e introduzca 1 gota de cada uno de los compuestos que se van a analizar en ellos. Adicionar 1 ml del reactivo de 2,4-dinitrofenilhidrazina. Agitar bien el tubo y consignar las observaciones en el informe. Si después de 15 minutos no se observa reacción, calentar suavemente en un baño María.

Prueba de Tollens

Limpiar un tubo de ensayo con hidróxido de sodio al 10 %. Adicionar 2 ml de una solución al 5 % de nitrato de plata y una gota de hidróxido de sodio al 10 %. Adicionar una solución al 2 % de hidróxido de amonio, gota a gota, hasta que el precipitado de óxido de plata se disuelva. No adicionar exceso de hidróxido de amonio. Adicionar una o dos gotas del aldehído, agitar muy bien y observar si hay formación del espejo de plata o plata coloidal. Si no hay reacción, calentar suavemente el tubo en un baño María. Repetir el procedimiento para los otros compuestos. Registrar sus observaciones en el informe.

Recomendaciones

– Las pruebas deben realizarse dentro de la campana debido a la toxicidad de los reactivos.

– El reactivo de Tollens debe ser preparado antes de su uso y no se debe almacenar, ya que es un reactivo que se descompone fácilmente y produce un precipitado altamente explosivo. El reactivo de Tollens y las soluciones generadas con el reactivo se deben tratar con ácido nítrico diluido para degradar los complejos generados y evitar la formación de subproductos peligrosos.

– Siempre es bueno realizar una prueba de control negativo y una de control positivo para comprender bien los resultados de las pruebas.

Cuestionario

1. Explique las propiedades físicas y químicas observadas en la práctica de los aldehídos y cetonas con base en su estructura.

2. Escriba todas las ecuaciones debidamente balanceadas de las reacciones realizadas durante la práctica y nómbrelas de acuerdo con la nomenclatura Iupac.
3. Escriba el mecanismo de la reacción de formación del espejo de plata.
4. ¿Qué otras pruebas de reconocimiento de aldehídos existen?

Práctica 9
Análisis de aminoácidos y proteínas

Objetivos

– Analizar las propiedades fisicoquímicas de las proteínas y de los aminoácidos mediante pruebas sencillas.
– Reconocer la presencia de algunos aminoácidos por pruebas físicas sencillas.

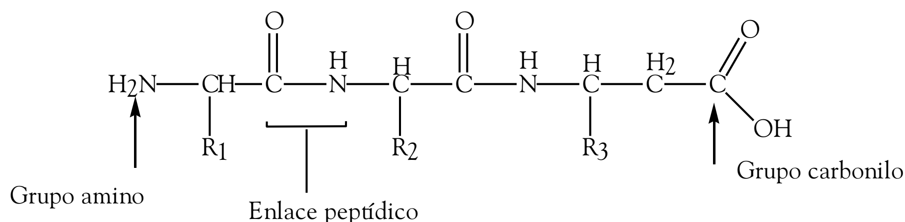
Introducción

En esta práctica de laboratorio, se han recopilado métodos de diversas fuentes para el análisis de las propiedades de algunos aminoácidos y de las proteínas, los cuales han sido ampliamente probados. Se ha recopilado información valiosa de los textos de Hormaza, 2004; Flores, 2005 y Pérez, 1996, en los cuales hay una amplia discusión de métodos y técnicas para este fin. Las proteínas (ver Figura 15) son el grupo de macromoléculas más abundante (en algunos casos representa el 50 % del peso total seco) que desempeñan funciones fundamentales en los seres vivos. Están constituidas por un grupo reducido de unidades monoméricas denominadas aminoácidos (alrededor de unos 20, aunque en la naturaleza existen más de 300) que se unen entre sí a través de enlaces tipo amida denominados enlaces peptídicos (McKee & McKee, 2003); (Pérez, 1996). Las propiedades y las funciones que desempeñan las proteínas dependen de la secuencia de sus aminoácidos la cual es propia de cada proteína. Están presentes en todos los seres vivos y en los alimentos y desempeñan funciones fundamentales en casi todos los procesos biológicos. Juegan un papel fundamental en el movimiento y como soporte estructural (actina y miosina); disminuyen la energía de activación de muchas reacciones biológicas (catalizadores, enzimas); están presentes en el

tejido conectivo (tendones, cartílagos); sirven para la comunicación (hormonas y sus receptores); como agentes de almacenamiento (albúmina, ferritina); útiles para el transporte (hemoglobina); actúan como soporte mecánico (colágeno) y ejercen función de protección inmunológica (anticuerpos) (Ocampo, Ríos, Betancur, & Ocampo, 2008); (Carey, 2003); (Flores, 2005).

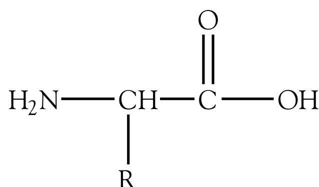
Los aminoácidos (ver Figura 16) como su nombre lo indica, están constituidos de un extremo amino y un extremo ácido, confiriéndoles la dualidad de ser anfipáticos, es decir, tienen un grupo amino básico y un grupo carboxilo ácido. Su valor como bloque sintético radica en la capacidad de formar enlaces amida entre el grupo amino de un aminoácido y el grupo carboxilo de otro, lo cual les permite formar largas cadenas. Si la cadena consta de 50 unidades ó menos, se denominan péptidos, en tanto que si el número es superior, se denominan proteínas. Se ha establecido que el aminoácido con el grupo amino libre se escriba en una proteína al lado izquierdo (N-terminal), mientras que el aminoácido con el grupo ácido libre se escribe al extremo derecho (C-terminal) (Boschmannn & Wells, 1990); (Flores, Sánchez, & Uribe, 2005); (Durán Ramírez, Moncada Durango, Rodriguez Rondón, Rey Obando, & Chamorro Viveros, 2007).

Figura 15
Estructura general de las proteínas



Fuente: Hormaza, 2004.

Figura 16
Estructura general de los aminoácidos

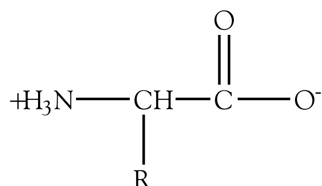


Fuente: Hormaza, 2004.

Los aminoácidos presentan propiedades bastante interesantes de acuerdo con su constitución única, como por ejemplo, su capacidad de protonarse en medio ácido al aceptar protones en el grupo amino y su capacidad de cargarse negativamente a través del grupo carboxilo en un medio fuertemente alcalino. Si el pH del medio es relativamente neutro, ambos grupos se encuentran como un ion dipolar denominado zwitterion (del alemán *zwitter*, "híbrido") (ver Figura 17); (Hormaza, 2004).

En las proteínas, las propiedades de los aminoácidos que las constituyen se manifiestan de forma tal que son únicas y se pueden usar para reconocerlas. Por ejemplo, la presencia de un aminoácido específico o una unión peptídica puede generar ciertos cambios físicos como coloración (Hormaza, 2004).

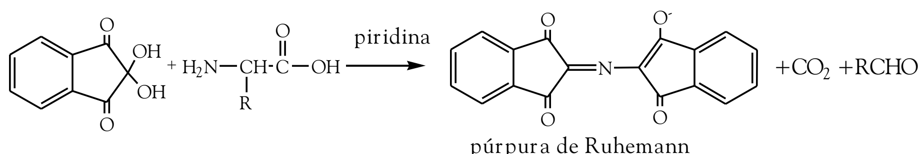
Figura 17
Estructura *zwitterion* de un aminoácido a pH neutro



Prueba de la ninhidrina

Esta reacción que también se conoce como la reacción de condensación de la ninhidrina y se usa con frecuencia para detectar aminoácidos en solución. Consiste básicamente en hacer reaccionar ninhidrina con un aminoácido a través de su grupo α-amino para generar un enlace peptídico. La ninhidrina a un pH entre 4-8 es un fuerte oxidante que siempre reaccionará con los grupos α-amino para dar un compuesto de color entre azul y púrpura y causar la pérdida de la cadena lateral del aminoácido en forma de aldehído (Flores, 2005). La intensidad del color será un indicativo de la concentración del aminoácido en la solución (Hormaza, 2004).

Esquema 7
Reacción de la ninhidrina para identificar aminoácidos

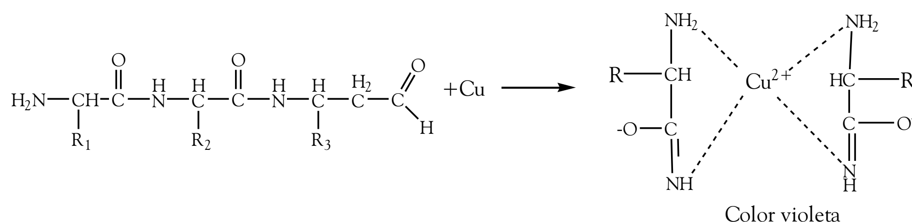


Fuente: Hormaza, 2004.

Prueba de Biuret

Es útil para identificar enlaces peptídicos entre los aminoácidos constituyentes de una proteína. Se basa en la formación de sales complejas al añadir sulfato cúprico que genera una coloración producto de la formación del complejo con Cu^{2+} en el cual cuatro moléculas de agua que se coordinan con el Cu^{2+} son desplazadas por los grupos amino de los enlaces peptídicos. La prueba es positiva cuando hay más de un enlace peptídico. Los pares libres de electrones provenientes de los grupos amino son los responsables de formar el complejo con el Cu^{2+} (Flores, 2005); (Hormaza, 2004).

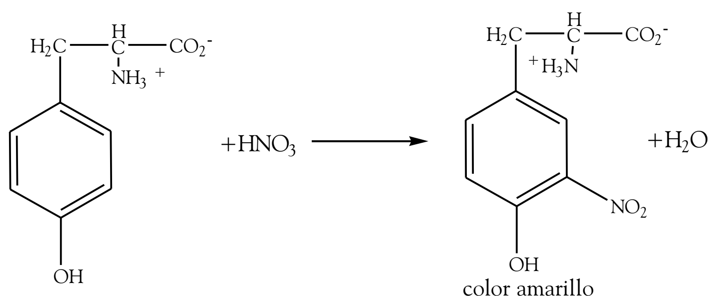
Esquema 8
Reacción de Biuret



Reacción xantoproteica para identificación de aminoácidos aromáticos

La nitración de aminoácidos aromáticos utilizando ácido nítrico concentrado (fenilalanina, tirosina y triptófano), produce la nitración (una reacción de sustitución electrofílica aromática) en el anillo aromático y genera compuestos de color amarillo. Con un tratamiento alcalino, la solución se torna naranja (Flores, Sánchez & Uribe, 2005).

Esquema 9
Reacción de nitración de la tirosina (Tyr) con ácido nítrico



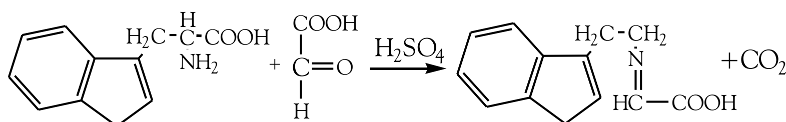
Fuente: Hormaza, 2004.

Reacción de Hopkins-Cole

El grupo indólico del triptófano reacciona con ácido glioxílico (que se forma cuando se expone a la luz ácido acético glacial) en presencia del ácido sulfúrico concentrado, y da un color púrpura.

Esquema 10

Reacción de Hopkins-Cole entre el triptófano y el ácido glioxílico



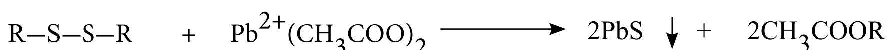
Fuente: Flores, 2005.

Reacción de azufre reducido

Cuando los aminoácidos que contienen azufre en su estructura, como la cisteína (R-SH) y la cistinia (RS-SR) reaccionan con NaOH y acetato de plomo, se produce un precipitado de color oscuro (café o negro) que corresponde al sulfuro de plomo (PbS) (Hormaza, 2004).

Esquema 11

Ecuación de la reacción de reducción de azufre de aminoácidos



Una proteína es estable y activa cuando en todos sus niveles se conserva su estructura. Estas estructuras se mantienen unidas por enlaces secundarios a partir de la estructura secundaria como son los puentes de hidrógeno, los puentes de disulfuro, las fuerzas dipolares, hidrofóbicas, iónicas, etc. Cuando se altera el entorno de la proteína se altera asimismo la composición química o la conformación de la proteína, lo cual genera un proceso de desnaturalización que deteriora la estructura superior de las proteínas con precipitación de sólidos. Estos cambios están relacionados con la exposición al calor, a la luz UV, a solventes orgánicos, a ácidos y bases y a sales de metales pesados, entre otros, los cuales causan el daño de la estructura (Hormaza, 2004).

La albúmina del huevo se desenrolla y precipita como una masa sólida elástica cuando la clara de huevo se somete a cocción. Otro cambio visible es el some-

timiento de las proteínas a pH ácido, lo cual sucita la protonación de los grupos carbonilo y por ende produce cambios conformacionales.

Determinación de las proteínas totales del suero y la relación albúmina/globulina

Mediante la prueba de Biuret se determinan las proteínas totales del suero. La concentración de albúmina se puede determinar en un suero al hacer que esta interaccione con el verde de bromocresol, ya que la intensidad del color es proporcional a la concentración de la albúmina ("error proteico de los indicadores"), la cual se puede seguir espectrofotométricamente. Las globulinas se calculan como la diferencia entre proteínas totales y albúmina (Flores, 2005).

Reactivos

- Solución de albúmina de huevo al 2 %.
- NaOH 50 %.
- Fenilalanina.
- $CuSO_4$ 5 %.
- Alanina.
- Acetato de plomo al 2 %.
- Triptófano.
- Ferrocianuro de potasio al 5 %.
- Ácido glutámico.
- Hidróxido de amonio.
- Lisina.
- Ácido tricloroacético.
- Valina.
- Ácido clorhídrico.
- Isoleucina.
- Ácido acético glacial.
- Solución de ninhidrina al 0.2 %.
- Ácido nítrico.
- Glicina.
- NaCl 5 %.
- Reactivo de Biuret.
- Verde de bromocresol.

- Ácido glioxílico.
- Suero o plasma de voluntario.
- Suero control humano (labtrol, ortho).
- Ácido sulfúrico.

Equipos

- Balanza analítica.
- Planchas agitadoras y calentadoras.
- Espectrofotómetro.
- Condensador.
- Balón de fondo redondo.

Protocolo

Prueba de la ninhidrina

1. Numerar tres tubos de ensayo.
2. Colocar 2 ml de agua en el tubo 1 (blanco).
3. Colocar 2 ml de solución al 1 % de glicina (o cualquier otro aminoácido).
4. Colocar 2 ml de solución de albúmina de huevo.
5. Agregar 20 gotas de solución de ninhidrina al 0.2 %.
6. Mezclar y calentar en un baño María durante 20 minutos.
7. Observar y reportar los resultados en cada tubo.

Prueba de Biuret

1. Enumerar tres tubos de ensayo.
2. Adicionar 3 ml de agua destilada al tubo I (blanco).
3. Al tubo II adicione 3 ml de solución de fenilalanina (o cualquier otro aminoácido).
4. En el tubo 3 colocar 3 ml de albúmina de huevo al 1 %.
5. Añadir a cada tubo 3 ml del reactivo de Biuret.
6. Observar los cambios y anotar.

Reacción xantoproteica para identificación de aminoácidos aromáticos

1. Numerar tres tubos de ensayo.

2. Al tubo 1 adicionar 2 ml de agua (blanco).
3. Al tubo 2 adicionar 2 ml de solución de tirosina o triptófano al 1 %.
4. En el tubo 3 adicionar 2 ml de solución de albúmina de huevo al 1 %.
5. Adicionar en su orden a cada tubo:
   a. 1 ml de ácido nítrico concentrado.
   b. Dos gotas de ácido sulfúrico concentrado.
   c. Calentar en baño María durante 10 minutos.
   d. Dejar enfriar.
   e. Agregar 2 ml de hidróxido de sodio al 40 %.
6. Observar cada tubo y anotar.

Reacción de Hopkins- Cole

1. Numerar tres tubos de ensayo.
2. Colocar 1 ml de agua en el tubo 1 (blanco).
3. Colocar 1 ml de solución de triptófano al 1 % en el tubo 2.
4. Colocar 1 ml de hidrolizado de proteína al 1 %.
5. Añadir sucesivamente a cada tubo, 0.5 ml de ácido glioxílico y 0.5 ml de ácido sulfúrico concentrado.
6. Anotar observaciones.

Reacción de azufre reducido

1. Marcar tres tubos de ensayo.
2. Adicionar 2 ml de agua al tubo 1.
3. Adicionar 2 ml de proteína de albúmina al 2 % al tubo 2.
4. Adicionar 2 ml de cisteína al tubo 3.
5. En su orden a cada tubo adicionar: 3 ml de NaOH 50 % y 1 ml de acetato de plomo al 2 %.
6. Calentar hasta obtener coloración oscura en la solución.
7. Anotar resultados.

Coagulación de proteínas por calor

1. Colocar en 1 tubo de ensayo 2 ml de albúmina de huevo.
2. Agregar 1 ml de NaCl al 5 % y caliente hasta ebullición.
3. Repetir este procedimiento con otros aminoácidos.
4. Anotar observaciones.

Precipitación por ácidos minerales fuertes

1. Verter por las paredes del recipiente que contiene 2 ml de proteína o aminoácido, 1 ml de ácido nítrico concentrado, formando una capa debajo de la proteína.
2. Repetir este procedimiento con ácido clorhídrico concentrado.
3. Anotar observaciones.

Nota: se debería formar un precipitado en la interface.

Determinación de las proteínas totales del suero y la relación albúmina/globulina

Procedimiento para proteínas totales

1. Marcar tres tubos de ensayo: blanco, patrón y problema.
2. Mezclar 0.1 ml de (blanco tubo 1, muestra problema tubo 2 y suero patrón tubo 3, con 5 ml del reactivo de Biuret en cada tubo) y dejar reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
3. Ajustar a cero de absorbancia (545 nm) con el blanco.
4. Medir la absorbancia del patrón y de la muestra.

Procedimiento para la albúmina

1. Marcar tres tubos de ensayo: blanco, patrón y problema.
2. Mezclar 0.02 ml de blanco tubo 1, muestra problema tubo 2 y suero patrón tubo 3, con 5 ml verde de bromocresol en cada tubo y dejar reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
3. Ajustar a cero de absorbancia (630 nm) con el blanco.
4. Medir la absorbancia del patrón y de la muestra.

Cuestionario

1. Realizar los cálculos pertinentes.
2. Escribir todas las ecuaciones relacionadas con la práctica.
3. ¿Cuál es el papel de la piridina en la formación del "púrpura de Ruhemann"?
4. ¿Cuáles son los aminoácidos esenciales y por qué se los conoce así?
5. ¿Cómo se prepara el reactivo de Biuret?
6. ¿Cuál es la ley de Beer-Lambert?

Sugerencias a los estudiantes e instructores

Previo a la práctica

Prepare sus prácticas de laboratorio con antelación, de forma que sea un ejercicio regular y permanente. Analice y profundice en detalle aquellos aspectos teóricos que representen la base de lo que se va a estudiar, comprobar o reconocer. Es importante preguntar; recuerde que las dudas solo conducen a equivocaciones.

El material de la práctica se debe solicitar con tiempo y confirmar que se tiene todo lo necesario para llevar a cabo de manera exitosa la experiencia. Se debe portar un cuaderno de laboratorio en el que se consignen los datos más importantes de la práctica, como resultados de mediciones, densidad, masa, volumen, concentraciones, cambios de coloración, aparición de precipitados, cálculos de rendimiento, etc., siguiendo las debidas normas de presentación. Esto le permitirá guardar un registro claro de los hechos más importantes ocurridos durante la práctica y cumplir con las normas de las buenas prácticas de laboratorio.

También es importante que el trabajo sea realizado en equipo de manera sincronizada y organizada a fin de contribuir a una cultura de trabajo en redes de cooperación, que facilite la labor y aporte resultados positivos de una forma sinergística.

Hay que tener presente que la química busca un desarrollo sostenible para el medio ambiente, de suerte que se evite al máximo la contaminación del agua, del suelo y de la atmósfera, para lo cual es básico una correcta disposición de los desechos o su adecuada desactivación. Se debe contribuir de manera positiva desde las aulas de clase a una cultura de desarrollo sostenible y ambientalmente amigable, a fin de que se exploten de manera responsable los recursos naturales.

Los informes se deben elaborar con tiempo usando las pautas que el instructor indique. Use la plantilla de presentación de informes que se muestra en la sección correspondiente.

Dentro del laboratorio

- Usar bata de laboratorio abotonada.
- Usar guantes de nitrilo.
- Usar gafas de seguridad.
- No usar sandalias.
- Usar zapatos cerrados antideslizantes.
- No usar vestidos cortos ni pantalones cortos.
- Tener el cabello recogido.
- No usar joyas.
- Usar los elementos de bioseguridad: guantes, gafas de seguridad, respirador.
- No comer, beber, fumar o mascar chicle.
- No correr, jugar o empujarse; no arrojarse líquidos por broma.
- No gritar ni causar pánico.
- No pipetear con la boca.
- No abrir ni cerrar puertas con guantes.
- No manipular un reactivo sin conocer su ficha técnica o grado de peligrosidad.
- No se debe salir con la bata del laboratorio a zonas comunes.
- Dar aviso inmediato de cualquier derrame de sustancias químicas en el laboratorio.
- No usar ningún equipo de laboratorio sin haber recibido una instrucción de manejo.
- Si una persona no está debidamente autorizada no puede desarrollar procedimiento alguno.
- Las mujeres embarazadas no deben manipular sustancias tóxicas tipo citotóxicas, cancerígenas, fototóxicas, neurotóxicas etc.
- Hacer de forma correcta el descarte de los desechos del laboratorio.

Guía para la presentación de informes escritos de laboratorio en química orgánica

El informe de la práctica de laboratorio se debe presentar por grupos de máximo tres estudiantes, los cuales se conformarán desde el inicio del curso y todos sus

integrantes deben aportar su realización. Recuerde que para la introducción y el marco teórico no se debe copiar textualmente la literatura sino hacer un análisis cuidadoso que permita redactar una idea con base en lo leído, empleando las referencias en forma adecuada. Evite el parafraseo y el plagio. Este informe se presentará bajo el formato tipo artículo, de acuerdo con las siguientes recomendaciones:

Máximo cinco páginas tamaño carta (21,59 cm de ancho y 27,94 cm de alto), escritas con un interlineado sencillo a doble columna (7,5 cm de ancho de columna); letra Arial 11 puntos; márgenes de 3 cm en el borde superior, 2 cm en el inferior y 2,5 cm en las márgenes laterales.

El título debe ser escrito en Arial 11 puntos, en mayúscula, centrado y en negrita; no debe exceder de 15 palabras.

La información del autor o los autores debe ir debajo del título a dos interlíneas, en mayúscula e incluir el primer y el segundo nombre (si lo tiene), primer apellido e inicial del segundo (si lo tiene y seguido de un punto), centrado. El título debe estar centrado y reflejar el objetivo principal de la práctica, es decir, debe ser coherente con lo que se pretende medir, obtener o analizar. Los estudiantes deben proponer el título.

Por ejemplo, si el objetivo es analizar la reactividad de los haluros de alquilo, el título de la práctica debería ser “Análisis de la reactividad de haluros de alquilo”.

Autores e institución de origen

Los autores del informe se deben consignar en orden alfabético, en forma continua y con el siguiente formato:

- El primer apellido, todo en mayúsculas.
- El segundo apellido solo se escribe su inicial en mayúscula, se cierra con un punto y se separa por una coma.
- El nombre inicia con mayúscula y el resto del nombre en minúscula.
- Cada integrante debe ir separado del otro por punto y coma.
- La institución a la que pertenecen se debe escribir justo después de citar a los integrantes y ser lo suficientemente específica.

Fecha de recepción

La fecha de recepción se escribe en dos líneas después de haber finalizado los autores. No debe ir precedida por ningún título.

Palabras clave

Permiten la identificación rápida del contenido del trabajo; no debe ser un glosario de palabras, de tres a cinco palabras clave es el número indicado.

Resumen

Expresa los aspectos más importantes del trabajo como los objetivos, la metodología y las conclusiones. Muestra de manera concisa los resultados de la investigación. Debe redactarse de forma precisa y concisa con un estilo de redacción impersonal.

Introducción

En esta sección se deben responder preguntas como por qué y para qué se realizó la experimentación. Debe incluir aspectos como origen, antecedentes, objetivos, y la relevancia de dicho estudio para el avance del campo respectivo y la aplicación en el área. Además, se deben discutir los alcances, las limitaciones y la metodología empleada. No incluye aspectos como las conclusiones, los resultados y la discusión del trabajo.

Datos, cálculos y resultados

Se deben reportar con las cifras significativas apropiadas, de acuerdo con los datos de origen; es decir, de los obtenidos a partir de las mediciones, los cuales están condicionados a la precisión de los instrumentos. Las ecuaciones se deben escribir usando el editor de ecuaciones de Word y se reportarán en orden de aparición, al lado derecho de la ecuación entre paréntesis y abreviado (Ec. 1). Los resultados incluyen la siguiente información:

- Datos primarios: valores medidos, masas obtenidas, etc.
- Cálculos: presentar una muestra de cálculo a partir de los datos primarios. Por ejemplo: cálculo del porcentaje de error de una medición, etc.
- Resultados: corresponden a observaciones obtenidas del experimento o a los valores a partir de un cálculo realizado.
- Se redacta de forma impersonal. Por ejemplo: “se elaboró”, “se encontró”, “se obtuvo”, etc.
- Involucra la presentación de tablas, gráficos y figuras de los resultados.

Tablas

Son conjuntos de números, valores, unidades y datos relacionados entre sí, presentados en forma de columnas para facilitar su interpretación. Se utilizan asteriscos y notas explicativas al pie de la tabla para hacer una breve descripción.

Figuras

Pertenecen a este grupo los esquemas, diagramas, organigramas, mapas y otros objetos gráficos que se utilizan para explicar la información pertinente al informe. Para explicar algún dato propio de la figura se hace como nota al pie de la figura.

Análisis de resultados

En esta sección se presenta la discusión de los resultados obtenidos durante la práctica, mediante su análisis, significado y utilidad. Se comparan los resultados con los conceptos, los datos o los resultados reportados en la literatura, por los autores o investigadores. Deben consignarse las ecuaciones químicas correctamente balanceadas de las reacciones llevadas a cabo durante la práctica y la discusión de estas, utilizando estructuras químicas que se deben dibujar con algún software disponible para esta función (generalmente *chemdraw*), como esquemas, las cuales deben llevar el mismo tamaño y tipo de letra del texto, y excelente legibilidad a fin de incorporarlas al documento. Algunas preguntas como las siguientes y las que aparecen en la guía de cada práctica, pueden ayudar a enfocar la discusión o análisis de los resultados:

- ¿Los resultados obtenidos son consistentes con los reportados en la teoría?
- ¿Se cumplieron los objetivos propuestos en la práctica?
- ¿Cuáles fueron las causas de error? Mencionar las posibles fuentes de error que afectaron el valor de los resultados obtenidos; por ejemplo, errores instrumentales (especificar), errores humanos (especificar).

Conclusiones

Deben estar alineadas con los objetivos definidos para la práctica y se deben incluir como mínimo tres conclusiones. Estas se presentan de forma objetiva, lógica, coherente y ordenada. No se deben hacer recomendaciones de ningún tipo dentro de las conclusiones.

Bibliografía

Se deben escribir las referencias bibliográficas de los libros, artículos científicos, direcciones electrónicas, etc., que se hayan consultado para el trabajo. Se usarán las normas APA, las cuales se encuentran disponibles a partir de Word 2010. En este punto es necesario que el instructor le explique cómo utilizar la herramienta de inserción de citas bibliográficas. Estas deben ser claras y completas. Como mínimo, deben citar una referencia de libros de química aparte de las referencias de páginas web. El formato para citar las referencias es el siguiente:

Para libros

Los libros, según las normas APA, se deben citar dentro del texto una vez se hayan utilizado ideas de otra fuente, entre paréntesis como se muestra a continuación:

– (Durán Ramírez, Moncada Durango, Rodríguez Rondón, Rey Obando, & Chamorro Viveros, 2007)

La cita en la sección de referencias aparecerá de manera automática organizada por orden alfabético de los autores de la siguiente manera:

– Durán Ramírez, F., Moncada Durango, E., Rodríguez Rondón, G. A., Rey Obando, A. M., & Chamorro Viveros, D. R. (2007). *Frutas que curan.* Bogotá, Colombia: Grupo Latino Editores.

Para artículos de revistas científicas

Los artículos de revistas científicas se deben citar entre paréntesis una vez finalice la idea que extrajo de otra fuente, redactada en sus propias palabras, como sigue: (Montagnac, Davis, & Tanumihardjo, 2009), la cual aparecerá en la sección de bibliografía de la siguiente manera:

– Montagnac, J. A., Davis, C. R., & Tanumihardjo, S. A. (2009). Nutritional Value of Cassava for Use as a Staple Food and Recent Advances for Improvement. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food safety, 8*, 181-194.

Para documentos de páginas web

El texto se cita de nuevo entre paréntesis una vez finalizado el texto así: (Favier, 1977). El cual aparecerá en la sección de las referencias de la siguiente manera:

– Favier, J. C. (1977). *Valeur alimentaire de deux aliments de base africains: le manioc et le sorgho.* (O. (. Outre-mer)., Ed.) Recuperado el 7 de diciembre de 2008, de http://www.congoforum.be/upldocs/manioc.pdf

Bibliografía

- ANDRÉIS", I. d. (01 de 09 de 2009). *Cromatografía de gases*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Cromatografía de gases: http://www.invemar.org.co/noticias.jsp?id=3636&idcat=105&pagina=2
- BALEARS, U. d. (2013). *Resonancia magnética nuclear 600MHz*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Resonancia magnética nuclear 600MHz: http://sct.uib.cat/es/Instruments-i-equips-dels-Serveis-Cientificotecnics/Area-de-resonancia-magnetica-nuclear/Resonancia-Magnetica-Nuclear-600MHZ-RMN-600.cid215616
- BIOSCA, Y. M., & CARTAS, S. T. (s.f.). *Guías multimedia del* GAMM*. Departamento de Química. Universidad de Valencia*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Guías multimedia del GAMM. Departamento de Química. Universidad de Valencia: http://www.uv.es/gammmm/Subsitio%20Operaciones/3%20material%20de%20uso%20frecuente%20COMPLETO.htm
- BOSCHMANNN, E., & WELLS, N. (1990). *Chemistry in action. A laboratory manual for general organic and biological chemistry.* New York: McGraw Hill.
- BRAND, L. (2009). *Lab Brand*. Recuperado el 16 de enero de 2013, de Lab Brand: http://www.labbrands.com/?p=429
- BROWN, T. L., LEMAY, H. E., BURSTEN, B. E., & MURPHY, C. J. (2009). *Química, la ciencia central.* México: Pearson Educación.
- C.V., S. Z. (2006). *Soldaduras Zelecta S.A. de C.V.* Recuperado el 17 de enero de 2013, de Soldaduras Zelecta S.A. de C.V.: http://soldaduraszelecta.com/productos/guante-de-asbesto-p-600.html
- CAREY, F. C. (2003). *Química orgánica.* México D.F.: McGraw Hill.

- CATALUNYA, U. d. (s.f.). *Portal científico y técnico. Equipos y servicios de la UPC.* Recuperado el 17 de enero de 2013, de Portal científico y técnico. Equipos y servicios de la UPC.: http://www.upc.edu/pct/es/equip/322/espectrofotometro-fluorescencia-fluorimetro.html

- DURÁN Ramírez, F., MONCADA Durango, E., RODRÍGUEZ Rondón, G. A., REY Obando, A. M., & CHAMORRO Viveros, D. R. (2007). *Frutas que curan.* Bogotá, Colombia: Grupo Latino Editores.

- DURST, H. D., & Gokel, G. W. (1985). *Química orgánica experimental.* Barcelona: Reverté.

- FAVIER, J. C. (1977). *Valeur alimentaire de deux aliments de base africains: le manioc et le sorgho.* (O. (. Outre-mer)., Ed.) Recuperado el 7 de diciembre de 2008, de http://www.congoforum.be/upldocs/manioc.pdf

- FLORES, L., SÁNCHEZ, S., & URIBE, S. (2005). *Manual de prácticas de Bioquímica.* Bogotá: McGraw Hill.

- GARCÍA Sánchez, M. (2002). *Manual de prácticas de química orgánica I.* Iztapalapa, México: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

- GILBERT, J. C. & MARTIN, S. F. (2006). *Experimental organic chemistry, a mini scale and micro scale approach.* Belmont: Thomson Brooks/Cole.

- GUADALAJARA, U. d. (s.f.). *Laboratorios*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Laboratorios: http://csmateriales.cucei.udg.mx/laboratorios.php

- GUARNIZO, A., & MARTÍNEZ, P. (2009). *Experimentos de Química orgánica con enfoque en ciencias de la vida.* Armenia: Ediciones Elizcom.

- GUIDOTTI, M. (2004). *Tecniche estrattive.* Recuperado el 16 de enero de 2013, de Tecniche estrattive: http://www.galenotech.org/tecniche_est.htm

- hellopro. (2013). *hellopro.es*. Recuperado el 16 de enero de 2013, de hellopro.es: http://www.hellopro.es/Telstar_S_A_-11615-noprofil-2002137-19950-0-1-1-fr-societe.html

- HORMAZA, A. (2004). *Manual de laboratorio de bioinorgánica.* Medellín, Antioquia, Medellín: Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

- IMAES. (s.f.). *Grupo de Ingeniería química y medioambiental. IMAES*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Grupo de Ingenieria química y medioambiental. IMAES: http://www3.uclm.es/profesorado/giq/lab2.htm
- INDURA (2009). *Indura. Grupo air products*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Indura. Grupo air products: http://www.indura.com.pe/productos_detalles.asp?idq=5001&a=ELEMENTOS%20DE%20PROTECCI%D3N&ai=3385&b=PROTECCI%D3N%20DE%20MANOS&bi=3409&c=Nitrilo
- Industry, D. (2013). *Direct industry. El salón virtual de la industria*. Recuperado el 16 de enero de 2013, de Direct industry. El salón virtual de la industria: http://www.directindustry.es/prod/brand/pipetas-aforadas-28307-458628.html
- JAÉN, U. d. (s.f.). *Espectrofotómetro de absorción atómica*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Espectrofotómetro de absorción atómica: http://vicinv.ujaen.es/node/475
- KOTITI Testing & Research Institute. (2008). *KOTITI Testing & Research Institute.* Recuperado el 16 de enero de 2013, de KOTITI Testing & Research Institute: http://kotiti.re.kr:8081/english/analysis/service
- LAMARQUE, A.; ZYGADLO, J.; LABUCKAS, D.; LÓPEZ, L.; TORRES, M. & MAESTRI, D. (2008). *Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica.* Córdoba, Argentina: Encuentro.
- LENTISCAL, G. (2005). *Laboratorio virtual de química.* Recuperado el 16 de enero de 2013, de Laboratorio virtual de química: http://www.gobiernodecanarias.org/educacion/3/usrn/lentiscal/1-cdquimica-tic/index.htm
- MARTÍNEZ, P. (9 de octubre de 2009). *Laboratorio de Ciencias Naturales y Matemáticas*. Recuperado el 16 de enero de 2013, de Laboratorio de Ciencias Naturales y Matemáticas: http://laboratoriodominguezacosta.blogspot.com/2009/10/equipos-de-laboratoirio.html
- McKEE, T., & McKee, J. (2003). *Bioquímica: la base molecular de la vida* (3 ed.). McGraw Hill.
- McMURRY, J. (2008). *Química orgánica* (7 ed.). México D.F.: Cengage Learning editores.

- MÉNDEZ, Á. (15 de septiembre de 2010). *La guía. Química. Reflujo.* Recuperado el 17 de enero de 2013, de La guía. Química. Reflujo.: http://quimica.laguia2000.com/quimica-organica/reflujo

- MONTAGNAC, J. A., DAVIS, C. R., & TANUMIHARDJO, S. A. (2009). Nutritional value of cassava for use as a staple food and recent advances for improvement. *Comprehensive reviews in food science and food safety, 8*, 181-194.

- MORRISON, R. T., & BOYLE, R. (1987). *Organic CHemistry.* Boston, Massachusetts: Pearson Addison Wesley.

- OCAMPO, R., RÍOS, L. A., BETANCUR, L. A., & OCAMPO, D. M. (2008). *Curso práctico de química orgánica. Enfocado a biología y alimentos.* Manizales: Universidad de Caldas.

- OSORIO, R. D., & NIÑO, M. M. (s.f.). *Práctica 7. Separación de mezclas. Universidad de Antioquia. Técnicas de laboratorio de química.* Recuperado el 17 de enero de 2013, de Práctica 7. Separación de mezclasUniversidad de Antioquia. Técnicas de laboratorio de química.: http://docencia.udea.edu.co/cen/tecnicaslabquimico/02practicas/practica07.htm

- PÉREZ, G. (1996). *Bioquímica, temas selectos y prácticas. Práctica 6 aminoácidos y proteínas.*

- PIRIÁPOLIS, L. d. (2011). *Laboratorio de química del Liceo de Piriápolis. Material básico del laboratorio de química*. Recuperado el 16 de enero de 2013, de Laboratorio de química del Liceo de Piriápolis. Material básico del laboratorio de química: http://labquimicapiriapolis.blogspot.com/2011/04/material-basico-de-laboratorio-de.html

- PRIMO, Y. E. (1995). *Química orgánica básica y aplicada* (Vol. II). Barcelona: Reverté.

- QUIMBIOTEC. (2010). *QUIMBIOTEC.* Recuperado el 16 de enero de 2013, de QUIMBIOTEC: http://www.quimbiotec.com/factor8.php

- RAMÍREZ, A., ARGOTI, J. C., & VALDERRUTEN, N. (2007). *Manual de prácticas de laboratorio de química orgánica general (microescala)*. Popayán: Universidad del Cauca.

- RODRÍGUEZ, J. (23 de marzo de 2004). *Práctica de fundamentos químicos de la ingeniería 4. Cromatografía de capa fina (TLC)*. Recuperado el 16 de enero de 2013, de Práctica de fundamentos químicos de la ingeniería 4.

Cromatografía de capa fina (TLC): http://www.unedcervera.com/c3900038/quimica_ingenieria/cromatografia.html

– Selamat datang di. PT Multi indsaintifik. (2011). *Selamat datang di. PT Multi indsaintifik.* Recuperado el 16 de enero de 2013, de Selamat datang di. PT Multi indsaintifik: http://indonetwork.co.id/multi_indo/trade

– SELLAR, W. (1992). *Guía de aceites esenciales.* Madrid: EDAF, S.L.

– SHRINER, R., HERMANN, C., MORRILL, T., CURTIN, D., & FUSON, R. (2004). *The systematic identification of organic compounds.* United States of America: Wiley.

– VALDERRUTEN, N., & USHER, L. (2009a). *Destilación por arrastre de vapor: aislamiento de un aceite esencial.* Cali: Universidad ICESI.

– VALDERRUTEN, N., & USHER, L. (2009b). *Extracción de trimiristina a partir de la nuez moscada.* Cali: Universidad ICESI.

– VALDERRUTEN, N., & USHER, L. (2009c). *Pruebas de caracterización de alcoholes .* Cali: Universidad ICESI.

– VALDERRUTEN, N., & USHER, L. (2009d). *Pruebas de caracterización de aldehídos y cetonas.* Cali: Universidad ICESI.

– VEGA, H. (20 de mayo de 2011). *hernanvdg*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de hernanvdg: http://hernanvdg.blogspot.com/2011/05/espectro-fotometro.html

– VERLAG Stuttgart, S. H. (1987). *Manual de prácticas de química orgánica.* Barcelona: Reverté.

– *Vicerrectorado de investigación. Universidad de Sevilla.* (s.f.). Recuperado el 17 de enero de 2013, de Vicerrectorado de investigación. Universidad de Sevilla.: http://investigacion.us.es/scisi/sgi/servicios/espectrometria-de-masas/equipamiento

– WADE, L. G. (2006). *Organic chemistry of wade* (Sexta ed.). Prentice Hall.

– YARETH químicos Ltda. (s.f.). *Montaje destilación fraccionada*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Montaje destilación fraccionada: http://yarethquimicos.uuuq.com/montaje_para_destilacion_fraccionada_o_sencilla.htm

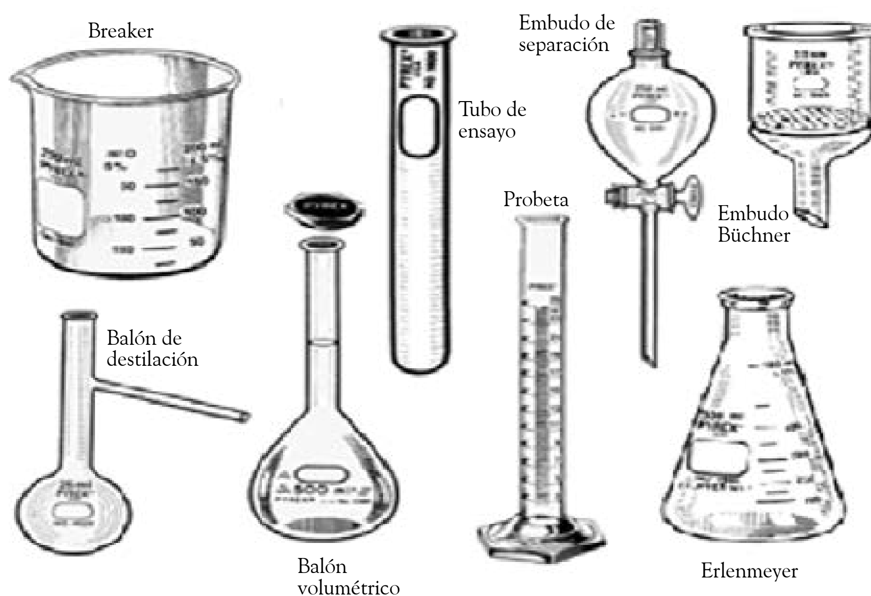
– ZULUAGA, H. F., INSUASTY, B., & YATES, B. (1999). *Análisis orgánico clásico y espectral.* Cali: Universidad del Valle.

Webgrafía

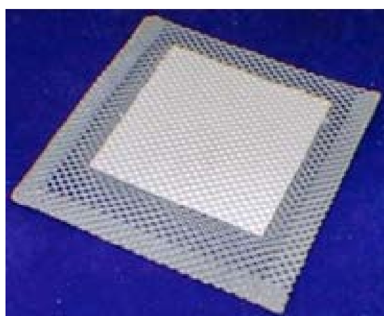
- *Achiote (Bixa orellana). Vademecum de plantas medicinales.* (2008). Colombia: Ministerio de la protección social.
- *La guía. Cromatografía de columna.* (18 de julio de 2011). Recuperado el 16 de enero de 2013, de La guía. Cromatografía de columna: http://quimica.laguia2000.com/general/cromatografia-en-columna
- (08 de 01 de 2013). Obtenido de http://www.google.com.co/imgres?um=1&hl=es&client=firefox-a&hs=Ozw&tbo=d&rls=org.mozilla:es-ES:official&biw=1366&bih=667&tbm=isch&tbnid=QueG67uD0WGv7M:&imgrefurl=http://karin.fq.uh.cu/~cnv1/qf/uclv/infoLab/practics/practicas/Destilacionfraccionada/P3.htm&
- Aliababa.com. (1999). *Alibaba.com*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Alibaba.com: http://spanish.alibaba.com/product-gs/vacuum-filtration-apparatus-1l-522147946.html
- Alibaba.com. (1999). *Alibaba.com*. Recuperado el 16 de enero de 2013, de Aliababa.com: http://spanish.alibaba.com/product-free/laboratory-condensers-104580871.html
- Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. (s.f.). *Difractor de rayos X*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Difractor de rayos X: http://www.sees.cinvestav.mx/seccion/antecedentes.htm
- Ciudad Universitaria, M. (10 de 06 de 2009). Obtenido de Laboratorio de química orgánica II (química orgánica): www.textoscientificos.com/quimica/cromatografia/capa-fina
- Colombia, E. y. (2011). *Rotaevaporador*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Rotaevaporador: http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/productos_mo.php?it=2183
- Colombianos, M. g. (2012). *Médicos generales colombianos*. Recuperado el 16 de enero de 2013, de Médicos generales colombianos: http://www.medicosgeneralescolombianos.com/sitio/programas-y-servicios/tienda-virtual.html?page=shop.product_details&flypage=flypage.pbv.v4.tpl&product_id=289&category_id=5
- Empesa (s.f.). *División analítica. Electromédica peruana.* Recuperado el 17 de enero de 2013, de División analítica. Electromédica peruana.: http://www.empesa.net/UV.htm
- Esperanza96 (11 de junio de 2012). *Esperanza96*. Obtenido de Esperanza96: http://esperanza96.wordpress.com/

- Estación experimentla del Zaidín. (s.f.). *Cromatógrafo HPLC.* Recuperado el 17 de enero de 2013, de Cromatógrafo HPLC.: http://www.eez.csic.es/?q=es/node/1187
- INFOJARDIN (2002). *INFOJARDIN.* Recuperado el 16 de enero de 2013, de INFOJARDIN: http://fichas.infojardin.com/condimentos/bixa-orellana-achiote-bija-achiotillo-achote-analto-bijo.htm
- Instituto de capacitación e investigación del plástico y del caucho (2013). *Análisis termogravimétrico.* Recuperado el 17 de enero de 2013, de Análisis termogravimétrico.: http://www.icipc.org/icipc_new_2/index.php?option=com_content&task=view&id=89&Itemid=14
- Instrumental, T. (s.f.). *Digestores de Kjedahl marca Buchi.* Recuperado el 17 de enero de 2013, de Digestores de Kjedahl marca Buchi.: http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/agroindustria/instrumental-de-laboratorio/tec-instrumental/digestores-de-kjeldahl.htm
- INSUASTY, B., & RAMÍREZ, A. (2008). *Prácticas de química orgánica en pequeña escala.* Cali: Universidad del Valle.
- MedicalExpo (2013). *Medical expo. El salón virtuald el médico.* Recuperado el 16 de enero de 2013, de Medical expo. El salón virtuald el médico.: http://www.medicalexpo.es/cat/preparacion-de-muestras/banos-maria-de-laboratorio-TE-648.html
- Pacífico, D. G.-C. (213). *Baño ultrasonido*. Recuperado el 17 de enero de 2013, de Baño ultrasonido: http://www.cccp.org.co/index.php/component/joomgallery/equipos/bano-ultrasonido-8
- Pascual, J. A. (s.f.). *100ciaquimica.net*. Recuperado el 16 de enero de 2013, de 100ciaquimica.net: http://www.100ciaquimica.net/labor/material/espatu.htm
- S.A., L. B. (2009). *Lab Brands.* Recuperado el 16 de enero de 2013, de Lab Brands.: http://www.labbrands.com/?p=429
- S.L., A. (s.f.). *Auxilab S.L. Material de laboratorio.* Recuperado el 17 de enero de 2013, de Auxilab S.L. Material de laboratorio.: http://www.auxilab.es/es/catalogo/refractometros_de-laboratorio_abbe_Refractometro-Abbe-modelo-320.aspx
- Starmedia. (2012). *Identificación de aldehídos y cetonas.* Recuperado el 17 de enero de 2013, de Identificación de aldehídos y cetonas.: http://html.rincondelvago.com/identificacion-de-aldehidos-y-cetonas.html

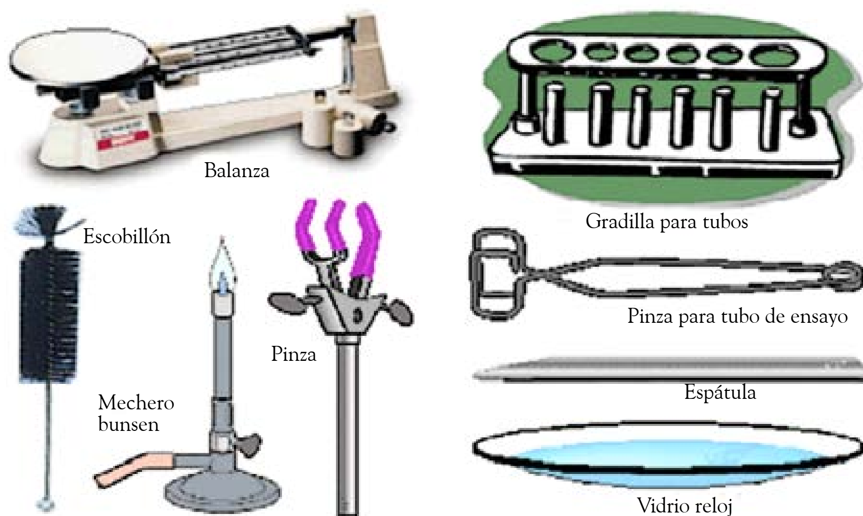
Anexo 1
Material de vidrio y equipos de laboratorio



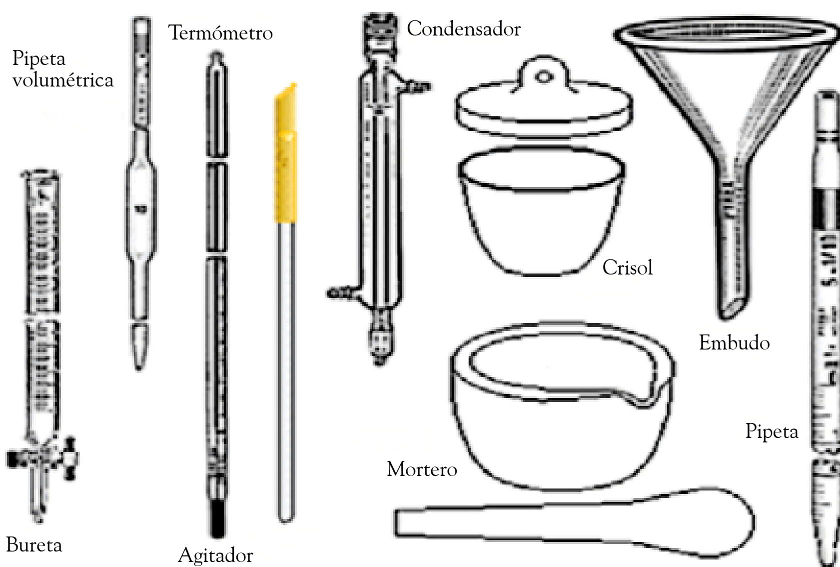
Fuente: Martínez, 2009.



Malla de asbesto. Fuente: colombianos, 2012.



Fuente: Martínez, 2009.



Fuente: Martínez, 2009.



Vidriería general. Fuente: Piriápolis, 2011.



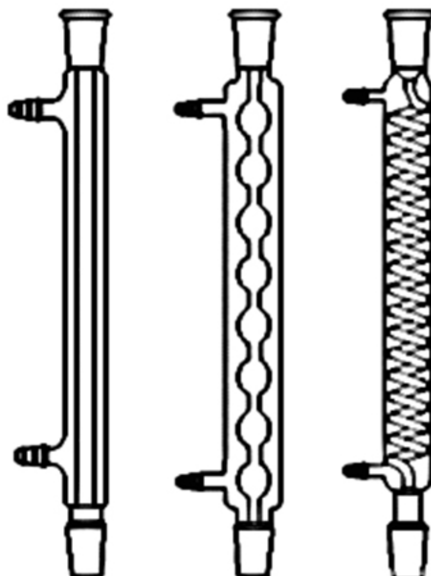
Espátulas de acero. Fuente: Pascual.



Pipetas graduadas y volumétricas. Fuente: industry, 2013.



Baño María termostático. Fuente: MedicalExpo, 2013.



Condensadores de laboratorio. Fuente: www.chimica-online.it/



Bomba de vacío para laboratorio. Fuente: hellopro, 2013.



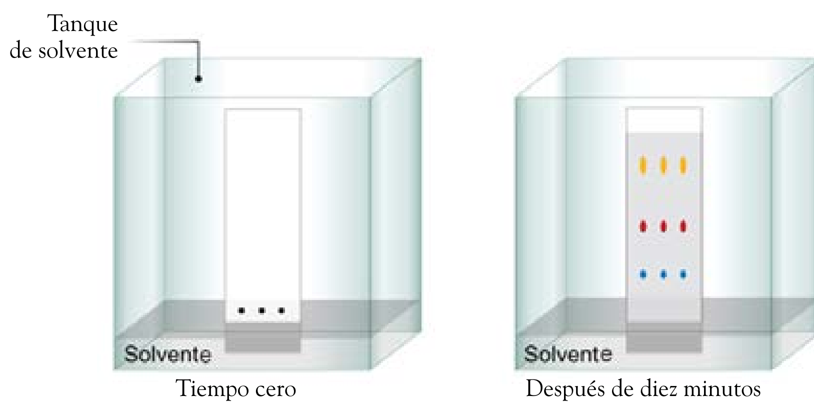
Guantes de asbesto. Fuente: C.V., 2006.



Guantes de nitrilo. Fuente: INDURA, 2009.

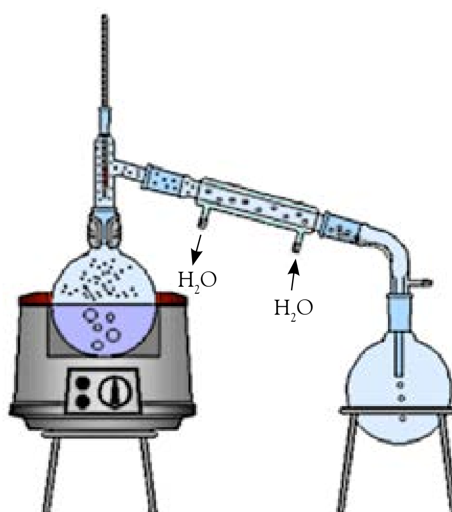


Desecador. Fuente: Biosca & Cartas.

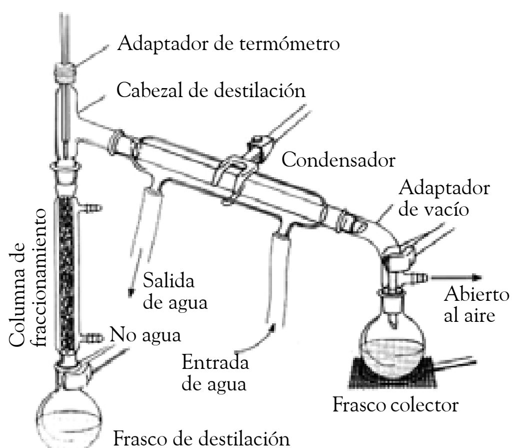


Cámara cromatográfica de capa fina. Fuente: www.waters.com

Anexo 2
Montajes experimentales



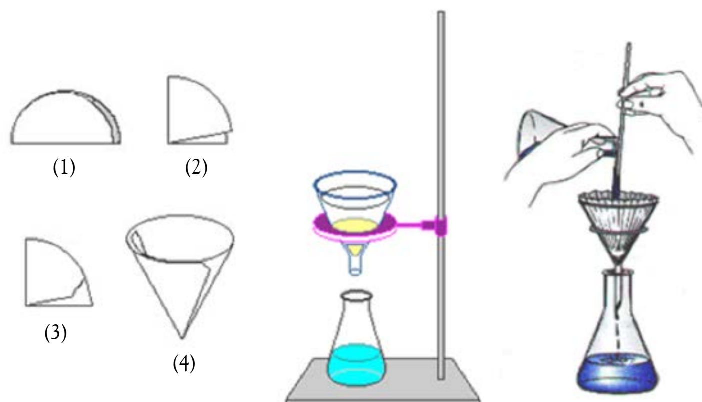
Destilación simple. Fuente: Lentiscal, 2005.



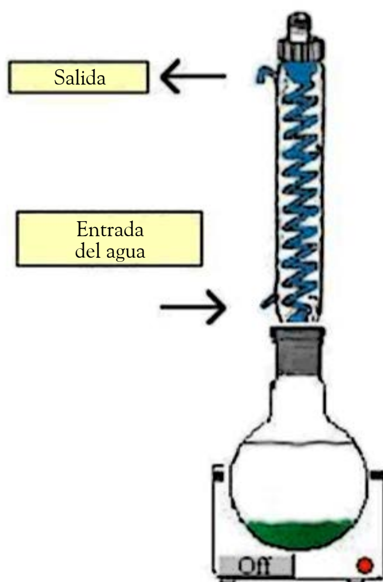
Destilación fraccionada. Fuente: www.sabelotodo.org



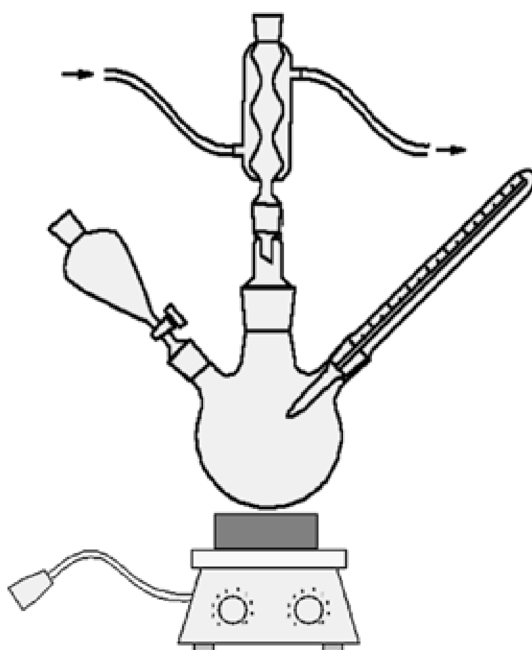
Destilación por arrastre con vapor. Fuente: 4.bp.blogspot.com/



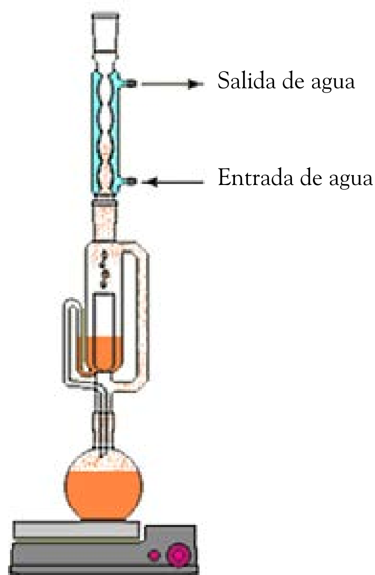
Filtración por gravedad. Fuente: Osorio & Niño.



Sistema de calentamiento con reflujo. Fuente: Méndez, 2010.



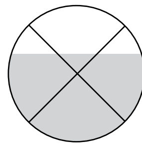
Sistema de reflujo con balón de tres bocas con embudo de adición y termómetro. Fuente: Starmedia, 2012.



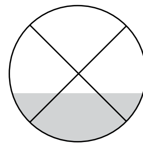
Montaje para extracción Soxhlet. Fuente: Guidotti, 2004.



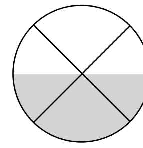
Refractómetro de Abbe. Fuente: (S.L.)



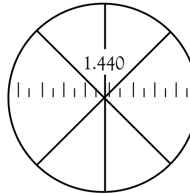
Por arriba
(a)



Por abajo
(b)



Óptimo
(c)



(d)

Determinación del índice de refracción: a) erróneo por arriba; b) erróneo por abajo; c) óptimo; d) valor leído. Fuente: García Sanchez, 2002.

Anexo 3
Instrumentos de química frecuentes



Espectrofotómetro UV/Vis. Fuente: Vega, 2011.



Digestor Kjeldhal. Fuente: instrumental.



Espectrómetro de masas. Fuente: img.directindustry.es/



Resonancia magnética nuclear. Fuente: Balears, 2013.



Espectrofotómetro de infrarrojo. Fuente: Empesa.



Baño ultrasónico. Fuente: Pacífico., 213.



Difractor de rayos X. Fuente: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N.



Rotaevaporador. Fuente: Colombia, 2011.



Analizador elemental. Fuente: Vicerrectorado de investigación. Universidad de Sevilla



Cromatógrafo HPLC. Fuente: Estación experimental del Zaidín.



Cromatógrafo de gases. Fuente: Andréis", 2009.



Analizador de carbono orgánico total, TOC. Fuente: Imaes.



Espectrómetro de absorción atómica. Fuente: Jaén.



Cromatógrafo de permeación en gel. Fuente: Guadalajara.



Espectrofotómetro de fluorescencia. Fuente: Catalunya.



Análisis termogravimétrico, TGA. Fuente: Instituto de capacitación e investigación del plástico y del caucho, 2013.

Este manual contiene una serie de prácticas de laboratorio en química orgánica diseñadas cuidadosamente para que el estudiante afiance los conocimientos sobre las técnicas de purificación de sólidos y líquidos y perfeccione el análisis de algunos grupos funcionales. Además se plantean prácticas relacionadas con la síntesis de algunos compuestos orgánicos sencillos y el aislamiento a partir de sustratos naturales, principios activos de interés y verificación de su pureza.



UNIVERSIDAD DE
SAN BUENAVENTURA
CALI

La Umbría, carretera a Pance
PBX: 318 22 00 - 488 22 22
Fax: 555 20 06 - A.A. 7154 y 25162
www.usbcali.edu.co

